

Aus der Klinik für Innere Medizin I
Onkologie, Hämatologie, Klinische Immunologie und Rheumatologie
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. Michael Pfreundschuh

**Pharmakokinetik des monoklonalen
anti-CD20 Antikörpers Rituximab
bei aggressiven CD20 positiven
B-Zell-Lymphomen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2014

vorgelegt von Viola Pöschel
geboren am 09.02.1971 in Bruchsal

Tag der Promotion:

1. Gutachter: Prof. Dr. Michael Pfreundschuh

2. Gutachter:

Dekan: Prof. Dr. Michael D. Menger

Meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis.....	III
1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	3
2.1. Epidemiologie und Inzidenz der aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphome.....	3
2.2 Behandlung des aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphoms	3
2.3 Pharmakokinetik von Rituximab.....	5
2.4 Zielsetzung der Arbeit.....	9
3 Material und Methodik.....	10
3.1 Studienpopulation, Studiendesigns und klinische Daten des Referenzkollektivs.....	10
3.2 Studienpopulation, Patientenauswahl und Studiendesigns zur Erstellung des pharmakokinetischen Modells von Rituximab	14
3.2.1 Serumproben	15
3.2.2 Bestimmung der Rituximab-Konzentrationen	15
3.2.3 Pharmakokinetische Analyse.....	15
3.2.4 Population der pharmakokinetischen Analyse und Modellerstellung	16
3.2.5 Modellerstellung.....	17
3.2.6 Evaluation des Modells.....	22
3.2.7 Simulationen	22
3.2.8 Statistische Analyse.....	22
3.3 Zusätzliche Untersuchungen nach Erstellung des pharmakokinetischen Modells.....	22
4 Ergebnisse	24
4.1 Ergebnisse zur Untersuchung des pharmakokinetischen Modells von Rituximab	24
4.1.1 Rituximab-Serumspiegel.....	26
4.1.2 Simulation der pharmakokinetischen Parameter.....	28

4.1.3 NONMEN Analyse.....	30
4.1.4 Korrelation mit den klinischen Ergebnissen.....	33
4.2 Ergebnisse der zusätzlichen pharmakokinetischen Untersuchungen nach Erstellung des Modells	35
4.2.1 Einfluss des Geschlechts auf das Therapieergebnis von älteren und jungen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen	35
4.2.2 Korrelation von Therapieergebnis, Alter und Geschlecht mit der Pharmakokinetik von Rituximab.....	41
4.2.3 Einfluss von Tumormasse und IPI auf die Rituximab-Clearance	44
5 Diskussion und Ausblick.....	46
5.1 Diskussion	46
5.2 Ausblick.....	54
6 Literaturverzeichnis	56
7 Publikationen/Danksagung.....	60
8 Curriculum vitae	63

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: „Goodness-of-fit plots“ und Verbesserung innerhalb des Basismodells.	21
Abbildung 2: Simulation der Rituximab-Serumspiegel mit APO/Mediware Version 3.50....	26
Abbildung 3: Clearance von Rituximab bei älteren männlichen und weiblichen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen.	31
Abbildung 4: Simulation der Pharmakokinetik von R-CHOP-14 gegenüber R-CHOP-21....	32
Abbildung 5: Einfluss des Gewichts auf das progressionsfreie Überleben in der RICOVER-60-Studie.....	34
Abbildung 6: Therapieergebnisse der weiblichen und männlichen Patienten der RICOVER-60-Studie.....	36
Abbildung 7: Therapieergebnisse der weiblichen und männlichen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen in der MInT-Studie.....	39
Abbildung 8: Relative Dosis von Cyclophosphamid in der RICOVER-60-Studie.	42
Abbildung 9: Relative Rituximab-Dosis in der RICOVER-60-Studie.	43
Abbildung 10: Auswirkung von Alter, Geschlecht, Tumormasse und IPI auf die Rituximab-Clearance	45

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristik der Patienten in der pharmakokinetischen Teilstudie	25
Tabelle 2: Charakteristik der Patienten in der pharmakokinetischen Teilstudie (n=20) im Vergleich mit der Charakteristik aller Patienten in der RICOVER-60-Studie (n=1222).....	25
Tabelle 3: Durchschnittliche Dosis von Rituximab und Infusionsrate in der pharmakokinetischen Teilstudie	27
Tabelle 4: Serum-Tal- und Spitzenspiegel von Rituximab unter R-CHOP-14 (n=20), gemessen unmittelbar vor bzw. 10 Min. nach der Applikation.....	27
Tabelle 5: Rituximab-Pharmakokinetikparameter der Population, dargestellt als Punktschätzer mit dem zugehörigen 95% Konfidenzintervall im strukturellen Basismodell und Modelle mit Kovariaten und Bootstrap-Analyse.....	29
Tabelle 6: Einfluss des Gewichts auf die Rituximab-Clearance und Serumhalbwertszeit bei älteren männlichen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen	31
Tabelle 7: Das progressionsfreie Überleben (PFS) weiblicher und männlicher Patienten aus der RICOVER-60-Studie, welche mit CHOP-14 mit und ohne Rituximab behandelt wurden	33
Tabelle 8: Multivariate Analyse der Risikofaktoren in Bezug auf die Therapieergebnisse in der RICOVER-60-Studie (1222 ältere Patienten)	37
Tabelle 9: Hazard-Ratio älterer männlicher vs. weiblicher Patienten für ein Event im progressionsfreien Überleben in den jeweiligen Studien und in den Behandlungsarmen mit bzw. ohne Rituximab	38
Tabelle 10: Multivariate Analyse der Risikofaktoren in Bezug auf die Therapieergebnisse in der MInT-Studie (823 junge Patienten mit guter Prognose [aaPI=0,1])*	40
Tabelle 11: Multivariate Analyse der Risikofaktoren in Bezug auf die Therapieergebnisse in der Mega-CHOEP-Studie (262 junge Patienten mit schlechter Prognose [aaPI=2,3]).....	41
Tabelle 12: Vergleich der pharmakokinetischen Parameter von Rituximab in publizierten Studien mit einem populationsbasierten Ansatz.....	47

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADCC	antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität)
AK	Antikörper
ASCO	American Society of Clinical Oncology (Amerikanische Gesellschaft für klinische Onkologie)
ASH	American Society of Hematology (Amerikanische Gesellschaft für Hämatologie)
AUC	area under the curve (Fläche unterhalb der Kurve)
CDC	complement-dependent cytotoxicity (komplementabhängige Zytotoxizität)
CHOEP	Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin, Etoposid und Prednis(ol)on
CHOEP-14	CHOEP im vierzehntägigen Abstand gegeben
CHOEP-21	CHOEP im einundzwanzigtägigen Abstand gegeben
CHOP	Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin und Prednis(ol)on
CHOP-14	CHOP im vierzehntägigen Abstand gegeben
CHOP-21	CHOP im einundzwanzigtägigen Abstand gegeben
CI	Konfidenzintervall
Cl	Gesamtclearance

C _{max}	maximale Konzentration
CV	Variationskoeffizient
CVP	Cyclophosphamid, Vincristin und Prednis(ol)on
d	day (Tag)
DSHNHL	Deutsche Studiengruppe Hochmaligne Non-Hodgkin Lymphome
DSMK	Daten- und Sicherheits-Monitoringkomitee
DV	data value
ECOG	Performance status of the Eastern Cooperative Oncology Group (Index zur Bewertung des Allgemeinzustandes analog den Kriterien der Eastern Cooperative Oncology Group)
EFS	Event free survival (Ereignisfreies Überleben)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
G-CSF	Granulozytenkolonie stimulierender Faktor
HIV	Human Immunodeficiency Virus (humanes Immundefizienz-Virus)
HR	Hazard Ratio
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
IPI	Internationaler Prognoseindex
IPRED	Individual Prediction (vorhergesagter Wert des Individuums)

IWRES	Individual Weighted Residual (individuell gewichtete Residualwerte)
k_{12}	Rate erster Ordnung (Konstante, welche den durchschnittlichen Transfer von Kompartiment 1 in Kompartiment 2 beschreibt)
k_{21}	Rate erster Ordnung (Konstante, welche den durchschnittlichen Transfer von Kompartiment 2 in Kompartiment 1 beschreibt)
K_{elm}	Eliminationskonstante
LBM	Lean Body Mass (Mageres Körpergewicht berechnet aus Länge und Gewicht)
LBMc	Lean Body Mass corrected (für die Fettverteilung eines Pharmakons korrigiertes Körpergewicht)
LDH	Lactatdehydrogenase
MACOP-B	Methotrexat, Doxorubicin, Cyclophosphamid, Vincristin, Prednison und Bleomycin
m-BACOD	Methotrexat, Bleomycin, Cyclophosphamid, Vincristin und Dexamethason
OFV	minimum value of objective function (Zahlenwert, der aus der Summe der gewichteten Abweichungsquadrate ermittelt wird)
ONW	oberer Normwert
OS	Overall survival (Gesamtüberleben)
PFS	Progression free survival (progressionsfreies Überleben)
PiMitCEBO	Mitoxantrone, Cyclophosphamid, Etoposid, Vincristin, Bleomycin und Prednison

PRED	Population prediction (vorhergesagter Wert der Population)
ProMACE-CytaBOM	Prednison, Doxorubicin, Cyclophosphamid, Etoposid, gefolgt von Cytarabin, Bleomycin, Vincristin und Methotrexat
Q	interkompartimentelle Clearance
R-CHOP	Rituximab, Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin und Prednis(ol)on
R-CHOP-14	R-CHOP im vierzehntägigen Abstand gegeben
R-CHOP-21	R-CHOP im einundzwanzigtägigen Abstand gegeben
SE	Standarderror (Standardfehler)
$t_{1/2\beta}$	Eliminationshalbwertszeit
$t_{1/2\alpha}$	Verteilungshalbwertszeit
V_1	zentrales Volumen
V_c	Volumen des zentralen Kompartiments
$V_{d_{ss}}$	Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
WT	weight (Gewicht)

1 Zusammenfassung

Da es nur wenige Daten zur Pharmakokinetik des seit 20 Jahren eingesetzten monoklonalen Antikörpers Rituximab gibt, ist es das Ziel dieser Arbeit, die Pharmakokinetik des monoklonalen anti-CD20 Antikörpers Rituximab bei aggressiven B-Zell-Lymphomen genauer zu untersuchen. Dazu wurde zunächst eine Pharmakokinetik von 8 Gaben Rituximab (375 mg/m^2) in Kombination mit CHOP-14 bei 20 älteren Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen erstellt.

10 Minuten vor und nach jeder Rituximab-Infusion wurden Blutproben abgenommen, zusätzliche Abnahmen erfolgten 1 Woche und 1, 2, 3, 6 und 9 Monate nach der letzten Infusion. Die Rituximab-Serumspiegel wurden mittels ELISA bestimmt. Mithilfe der nonlinearen effektgemischten Modellsoftware (NONMEM VI) wurde ein populationsbasiertes Pharmakokinetikmodell erstellt. Die Daten zum Serumkonzentrations-Zeit-Verlauf wurden an ein offenes Zweikompartimentmodell angepasst und die Gesamtclearance (Cl), das Volumen des zentralen Kompartiments (V_c), die interkompartimentelle Clearance (Q) und das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ($V_{d_{ss}}$) wurden bestimmt. Die Cl betrug $9,43 \text{ ml/h}$ und das $V_{d_{ss}}$ $9,61 \text{ l}$. Die Rituximab-Clearance war bei älteren Frauen im Vergleich zu älteren Männern signifikant reduziert ($8,21 \text{ ml/h}$ vs. $12,68 \text{ ml/h}$; $p=0,003$) und die Halbwertszeit war signifikant verlängert ($t_{1/2\beta}=30.7$ vs. $t_{1/2\beta}=24.7 \text{ d}$; $p=0.003$). Auch das Körpergewicht hatte einen Einfluss auf das Verteilungsvolumen der gesamten Studienpopulation älterer Männer und Frauen: $0,1 \text{ l}$ Anstieg des $V_{d_{ss}}$ pro Kilogramm Körpergewicht über dem durchschnittlichen Gewicht von 75 kg . Danach wurde die Rituximab-Pharmakokinetik auch bei jüngeren Patienten bestimmt. Es zeigte sich, dass jüngere Männern und Frauen über eine ähnliche Rituximab-Clearance verfügen ($9,89$ vs. $10,38 \text{ ml/h}$; $p=0,238$). Damit hatten im Vergleich zu den älteren Frauen alle anderen Subgruppen eine signifikant schnellere Rituximab-Clearance, was dafür spricht, dass bei ihnen die Standarddosierung von Rituximab mit 375 mg/m^2 suboptimal ist. Frühe Ergebnisse pharmakokinetikbasierter prospektiver Studien mit dem Ziel, das therapeutische Potential von Rituximab auszuschöpfen, sprechen dafür, dass höhere Dosierungen und/oder verlängerte Expositionszeiten das Therapieergebnis älterer Männer mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen verbessern können. Weitere Studien bei allen Subgruppen von Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen mit dem Ziel der Optimierung der Dosis und/oder des zeitlichen Applikationsschemas von Rituximab sind dringend notwendig.

Summary

As only limited data regarding the pharmacokinetics of the monoclonal antibody rituximab, which has been used for 20 years, were available, it was the goal of this study to investigate the pharmacokinetics of the monoclonal anti-CD20 antibody rituximab in more detail. As a first step we investigated the pharmacokinetics of 8 doses rituximab (375mg/m^2) given in combination with CHOP-14 in 20 elderly patients with aggressive CD20 positive B-cell-lymphoma. Blood samples were obtained 10 minutes before and after each rituximab infusion, and 1 week, and 1, 2, 3, 6 and 9 months after the last infusion. Rituximab serum levels were determined by ELISA. Population pharmacokinetic modeling was performed with nonlinear mixed effect modeling software (NONMEM VI). Serum concentration-time data were fitted into an open two-compartment model and total clearance (Cl), central compartment volume (V_c), intercompartment clearance (Q) and volume of distribution at steady-state ($V_{d_{ss}}$) were investigated. Cl was 9.43 ml/h and $V_{d_{ss}}\ 9.61\text{ l}$. Rituximab clearance was significantly reduced (8.21 ml/h vs. 12.68 ml/h ; $p=0.003$) and elimination half life was significantly prolonged in elderly women compared to elderly men ($t_{1/2B}=30.7$ vs. $t_{1/2B}=24.7\text{ d}$; $p=0.003$). Body weight also impacted on volume of distribution of the total study population of elderly male and female patients (0.1 l increase of $V_{d_{ss}}$ per kilogram of body weight above median weight of 75 kg). As a next step rituximab pharmacokinetics was determined in young patients. Similar rituximab clearances in young males and females (9.89 vs. 10.38 ml/h ; $p=0.238$) were found. Hence, compared to elderly females all other subgroups had significantly faster rituximab clearances and thus appear to be suboptimally dosed when rituximab is given at 375 mg/m^2 . While early results of pharmacokinetic-based prospective trials designed to exploit the full therapeutic potential of rituximab suggest that increased doses and/or prolonged exposure times can improve the outcome of elderly males with aggressive CD20 positive B-cell-lymphoma, further studies are warranted that address the optimization of rituximab dose and schedule in all subgroups of patients with aggressive CD20 positive B-cell-lymphoma.

2 Einleitung

2.1. Epidemiologie und Inzidenz der aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphome

In Deutschland zählen Non-Hodgkin-Lymphome nach der gemeinsamen Publikation der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister und des Zentrums für Krebsregisterdaten des Robert-Koch-Institutes zu den zehn häufigsten Krebserkrankungen¹

Mit einem Anteil von 30-58% stellen die diffus-großzelligen B-Zell-Lymphome, eine Untergruppe der aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphome, unter den Lymphomen die Gruppe der häufigsten Erkrankungen dar. In Europa kommt es zu 3-4 Neuerkrankungen/100.000/Jahr. Die Inzidenz dieser Erkrankung steigt mit dem Alter an; so beträgt sie im Alter von 35-39 Jahren 0,3/100.000/Jahr und im Alter von 80-84 Jahren 26,6/100.000/Jahr².

2.2 Behandlung des aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphoms

In der Behandlung der aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphome gab es in den letzten 40 Jahren mehrere Meilensteine. Durch die Einführung von acht Gaben des dreiwöchigen CHOP (Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin und Prednisolon) - Chemotherapieschemas durch McKelvey et al.³ in den siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts konnten erstmals komplette Remissionsraten bei 71% der Patienten erreicht werden. In den 80-er Jahren wurden intensivere, komplexere, d.h. mehr Substanzen enthaltende, Zweitgenerationsprotokolle entwickelt mit der Intention, die Ergebnisse weiter zu verbessern. Dazu gehörten: m-BACOD⁴ (Methotrexat, Bleomycin, Cyclophosphamid, Vincristin und Dexamethason), ProMACE-CytaBOM⁵ (Prednison, Doxorubicin, Cyclophosphamid, Etoposid, gefolgt von Cytarabin, Bleomycin, Vincristin und Methotrexat) sowie MACOP-B⁶ (Methotrexat, Doxorubicin, Cyclophosphamid, Vincristin, Prednison und Bleomycin). Nicht-randomisierte Phase-II-Studien suggerierten eine Überlegenheit dieser aggressiveren Chemotherapieschemata im Vergleich zu CHOP. Aber in einer Meilenstein-Studie, die CHOP mit den aggressiven Schemata der zweiten und dritten Generation verglich (Fisher et.al.⁷), zeigte CHOP die gleiche Wirksamkeit wie die Protokolle der zweiten und dritten Generation bei einem deutlich günstigeren Toxizitätsprofil. Damit war CHOP als Standardschema der Chemotherapie des aggressiven Non-Hodgkin Lymphoms etabliert.

Durch den Einsatz des rekombinanten humanen Granulozytenkolonie stimulierenden Faktors (G-CSF), der Mitte der 90-er Jahre zur Behandlung Chemotherapie-induzierter Neutropenien zugelassen wurde⁸, war es möglich geworden, die Erholungszeit des Knochenmarks nach einer myelosuppressiven Chemotherapie zu verkürzen und die Therapieintervalle des CHOP-Protokolls von 21 Tagen auf 14 Tage zu reduzieren. Die Deutsche Studiengruppe Hochmaligne Non-Hodgkin Lymphome (DSHNHL) führte eine prospektive randomisierte Studie mit der Fragestellung durch, ob durch diese dosisdichtere Gabe von CHOP (CHOP-14 vs. CHOP-21) oder die Kombination mit Etoposid (CHOEP-21) oder die Kombination von beidem (CHOEP-14) die Ergebnisse von Patienten mit aggressiven Lymphomen aller Risikogruppen verbessert werden können (NHL-B1 und NHL-B2-Studien der DSHNHL^{9;10}). Die NHL-B1-Studie zeigte, dass jüngere Patienten (18-60 Jahre) von der Hinzunahme von Etoposid zu CHOP profitieren (CHOEP-21), in der 2x2 -faktoriellen Analyse profitierten sie aber nicht von der Intervallverkürzung. Die NHL-B2-Studie ergab, dass ältere Patienten (61-75 Jahre) von der dosidichteren, vierzehntägigen Gabe (CHOP-14) im Hinblick auf ein verbessertes ereignisfreies- und Gesamtüberleben (EFS und OS) profitieren.

Die größte Verbesserung der Therapie von B-Zell-Lymphomen hat Rituximab¹¹ erreicht. Dies ist ein biotechnologisch (rekombinant) hergestellter murin-humaner chimärer monoklonaler Antikörper, der mit hoher Affinität an das CD20 Antigen auf der Oberfläche von benignen und malignen B-Lymphozyten bindet. Rituximab induziert zwar eine komplementvermittelte B-Zell-Lyse (CDC = complement-dependent cytotoxicity), wirkt aber vor allem über eine Antikörper-abhängige zelluläre Zytotoxizität (ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity). Des Weiteren löst die Bindung von Rituximab an die B-Zellen eine direkte Apoptose aus¹².

Drei große Phase-III-Studien demonstrierten eine erhebliche Verbesserung aller Endpunkte durch eine Rituximab-haltige Chemotherapie. Zum ersten Mal zeigte Coiffier et al.¹³ 2002, dass die Hinzunahme von Rituximab zur dreiwöchentlichen CHOP Gabe das Gesamtüberleben von älteren Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen signifikant verbessert. 2006 wurde unter der Federführung der DSHNHL in der multizentrischen, internationalen MInT-Studie¹⁴ gezeigt, dass die Hinzunahme von Rituximab zu einer CHOP-ähnlichen Chemotherapie auch bei jüngeren Niedrigrisiko-Patienten mit aggressiven Lymphomen das ereignisfreie und Gesamtüberleben signifikant verbessert.

Dass Rituximab ebenfalls die Ergebnisse des in Deutschland für ältere Patienten etablierten Standardschemas CHOP-14 signifikant verbessert, wurde in der RICOVER-60-Studie¹⁵ der

DSHNHL gezeigt. Diese Studie prüfte bei Patienten (61 bis 80 Jahre) in einem 2x2 faktoriellen Design zum einen, ob durch sechs versus acht Zyklen CHOP-14 und zum anderen, ob durch die Hinzunahme von acht Gaben Rituximab zu der jeweiligen Chemotherapie die Therapieergebnisse verbessert werden können. Sechs Zyklen CHOP-14 in Kombination mit acht Gaben Rituximab verbesserten signifikant das ereignisfreie, progressionsfreie und das Gesamtüberleben im Vergleich zu sechs Zyklen alleiniger Chemotherapie. Die Applikation von mehr als sechs Zyklen CHOP-14 ist nicht mehr gerechtfertigt. Für das Therapieschema R-CHOP-21 sind nur Daten über acht Zyklen verfügbar, nicht aber über 6 Zyklen¹².

2.3 Pharmakokinetik von Rituximab

Obwohl Rituximab inzwischen weltweit aus der Standardtherapie von aggressiven Lymphomen nicht mehr wegzudenken ist, gibt es wenige Daten zu Serumspiegeln und zur Pharmakokinetik bei Patienten mit aggressiven Lymphomen. 1994 veröffentlichten Maloney et al.¹⁶ erste Daten einer Phase-I-Dosisfindungsstudie zu Rituximab bei rezidierten Lymphomen. In diese Studie wurden 15 Patienten eingeschlossen. Nur zwei Patienten hatten ein aggressives Lymphom. Die Patienten erhielten jeweils eine Gabe Rituximab. Dessen Dosis betrug 10, 50, 100, 250 bzw. 500 mg/m², wobei auf jedem Dosislevel jeweils drei Patienten behandelt wurden. Die Rituximab-Pharmakokinetik schien sich linear mit steigender Dosis in höheren Serumspiegeln abzubilden. In dieser Studie zeigte sich allerdings auch bei einem Patienten mit hoher Tumorlast eine niedrigere Halbwertszeit des Antikörpers im Serum.

Weitere Daten zur Rituximab-Pharmakokinetik publizierten erneut Maloney et al.¹³ 1997 bei 37 Patienten mit rezidierten niedrig-malignen Lymphomen. Das Rituximab-Applikationsschema bestand in dieser Studie aus vier wöchentlichen Gaben von jeweils 375 mg/m². Es wurden jeweils vor und nach der Rituximab-Infusion Serumproben abgenommen. Zusätzliche Abnahmen erfolgten in Woche 1 und 4, jeweils 24, 48, 72 und 96 Stunden nach der Infusion. In dieser Studie wurden bei 5 Patienten vor der Infusion Rituximab-Talspiegel kleiner als 10 µg/ml gemessen, was bedeutet, dass sie entweder kein „steady-state“ erreicht haben, oder dass sie wahrscheinlich im Vergleich zu den anderen Patienten über eine schnellere Rituximab-Ausscheidung verfügten. Lediglich bei 9 Patienten wurden detaillierte Untersuchungen zu den Rituximab-Serumspiegeln durchgeführt. Bei diesen Patienten betrug die mittlere maximale Serumkonzentration $500,5 \pm 135,2$ µg/mL, und

die Halbwertszeit des Antikörpers variierte zwischen 12,7 und 370,8 Stunden.

Eine weitere Arbeit, in der zusätzlich pharmakokinetische Untersuchungen zu Rituximab durchgeführt wurden, erschien 1998 von Berinstein et al.¹⁴. Diese wurden bei 166 Patienten ebenfalls mit rezidierten niedrig-malignen Lymphomen durchgeführt, welche ebenfalls vier wöchentliche Gaben Rituximab mit einer jeweiligen Dosis von 375 mg/m² erhielten. Die Serumproben wurden jeweils vor und nach der Infusion sowie eine Woche, einen Monat und drei Monate nach der letzten Infusion abgenommen. Bei weiteren 14 zufällig ausgewählten Patienten erfolgten zusätzliche Blutabnahmen 24, 48, 72 und 96 Stunden nach der ersten bzw. vierten Infusion. Die Berechnungen zur „area under the curve“ (AUC), also der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve, und zur Rituximab-Clearance erfolgten hier am Nonkompartimentmodell. Die Rituximab-Halbwertszeit wurde anhand eines Ein- bzw. Zweikompartimentmodells berechnet. In dieser Studie stiegen die Rituximab-Serumspiegel kontinuierlich nach jeder Gabe an und fielen in der Nachbeobachtungsphase kontinuierlich ab.

Eine der wenigen Untersuchungen zur Rituximab-Pharmakokinetik bei aggressiven Lymphomen wurde 2004 von Tobinai et al.¹⁵ publiziert. Diese bezogen sich auf japanische Patienten mit rezidierten bzw. refraktären Lymphomen. 68 Patienten erhielten acht wöchentliche Rituximab-Infusionen mit einer jeweiligen Dosierung von 375 mg/m². Bei 12 Patienten wurden zusätzlich pharmakokinetische Untersuchungen durchgeführt. Die Serumproben wurden jeweils vor bzw. nach der Infusion und zusätzlich 24, 48 und 120 Stunden nach der Infusion abgenommen. Weitere Abnahmen erfolgten 1, 4 und 16 Wochen nach der letzten Infusion. Tobinai fand bei seinen Patienten bezüglich der Serumtalspiegel und der AUC signifikante Unterschiede zwischen den Patienten, die auf die Therapie ansprachen und denen, die nicht auf die Therapie ansprachen. Diese waren bei den Patienten, die auf die Therapie ansprachen, deutlich höher. Er fand außerdem eine inverse Korrelation zwischen der initialen Tumorlast und der AUC. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Patientengruppen konnte er in Bezug auf maximale Serumkonzentration und Halbwertszeit im Serum nachweisen. In einer weiteren Arbeit von Blasco et al.¹⁶ wurde bei insgesamt 10 Patienten die Pharmakokinetik von Rituximab bei Patienten mit B-Zell-Lymphomen untersucht. Von diesen 10 Patienten hatten lediglich 7 Patienten ein aggressives Lymphom. Alle Patienten erhielten R-CHOP-21 mit einer Rituximab-Dosierung von 375 mg/m², die Rituximab-Pharmakokinetik wurde jedoch nur in den ersten vier Kursen gemessen. Die Serumproben wurden jeweils vor und am Ende der Infusion abgenommen und zusätzliche Abnahmen erfolgten 2 und 4 Stunden nach Ende der Infusion sowie 24, 48 und 72

Stunden nach Start der Infusion. Blasco et al. stellten mit jeder Rituximab-Gabe steigende Rituximab-Talspiegel fest. Von 33,7 mg/l nach der ersten Infusion stieg der Wert auf 76,1 mg/l nach der vierten Gabe. Sie fanden aber auch eine erhebliche interindividuelle Variabilität der Rituximab-Serumspiegel. Zum Beispiel hatte ein Patient eine deutlich schnellere Rituximab-Clearance im Vergleich zu den anderen Patienten; diese war aber nicht durch die demographischen Daten des Patienten erklärbar. Ein weiteres Ergebnis der Studie war, dass kein Unterschied im pharmakokinetischen Verhalten bei Patienten mit hoher und niedriger Tumorlast gefunden wurde.

Zur Pharmakokinetik von Rituximab bei Patienten mit aggressiven B-Zell-Lymphomen in Kombination mit CHOP-14 gibt es daher bisher nur unzureichende Daten.

Die gängige Rituximab-Dosierung von 375mg/m^2 wurde eher aufgrund unzureichender Produktionskapazitäten¹⁷, denn auf wissenschaftlicher Basis gewählt¹⁸. Denn keine der beiden Studien, die initial höhere Dosierungen bis zu 500mg/m^2 testeten (Maloney et al.¹⁶ und Maloney et al.¹³), fand eine Dosis-Wirkungsbeziehung oder eine Dosis-limitierende Toxizität, wahrscheinlich, weil die Zahl der untersuchten Patienten zu gering war. Ähnliches trifft auch auf das Applikationsschema von Rituximab zu. Auch dieses orientiert sich eher historisch und logistisch an der CHOP-Gabe als an fundierten wissenschaftlichen Untersuchungen. Coiffier et al.¹² zeigten als erste, dass sich durch acht Gaben Rituximab in Verbindung mit acht Gaben CHOP-21, jeweils am Tag vor der CHOP-Gabe, die Ergebnisse älterer Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen signifikant verbessern lassen. Auch bei weiteren Studien zur Kombination von Rituximab mit einer CHOP-ähnlichen Chemotherapie gab es bisher keine pharmakokinetischen Untersuchungen. Immer wurde, wie z. B. bei Hiddemann et al.²² bzw. bei Marcus et al.¹⁹ bei niedrig-malignen Lymphomen Rituximab am Tag vor CHOP bzw. CVP gegeben. Und immer orientierte sich die Anzahl der Rituximab-Gaben an der Anzahl der Chemotherapiegaben. Lediglich Czuzman et al.²⁰ veränderten in ihrer 1999 publizierte Studie das Rituximab-Applikationsschema in Verbindung mit CHOP bei niedrig-malignen Lymphomen. Zwar erhielten die 40 Patienten in dieser Studie ebenfalls die gleiche Anzahl Rituximab wie CHOP (sechs mal), allerdings nicht zeitlich aneinander gekoppelt. Die ersten beiden Rituximab-Gaben erfolgten sechs bzw. einen Tag vor CHOP, die nächsten beiden jeweils zwei Tage vor dem CHOP Zyklus 3 respektive 5, die fünfte Gabe erfolgte zwei Wochen nach der sechsten Gabe CHOP und die letzte Rituximab-Applikation eine Woche später. Die Rationale für dieses veränderte Rituximab-Applikationsschema bestand in der Annahme, dass zum einen die Gaben eins und zwei als „loading dose“ fungieren sollten, um eventuelle chemoresistente Zellen chemosensitiv zu machen. Durch die

Gaben drei und vier sollten synergistische Effekte in Kombination mit CHOP genutzt werden, und die letzten beiden Gaben sollten residuelle Lymphomzellen nach der Chemotherapie eliminieren. Dieses Schema führte zu ähnlich guten Ergebnissen bei niedrig-malignen Lymphomen wie das herkömmliche Applikationsschema und wurde bisher nicht in einem randomisierten Vergleich mit diesem getestet, so dass über die Effektivität der veränderten Rituximab-Gabe keine Aussage getroffen werden kann.

Daher steht der Nachweis noch aus, dass die Standarddosierung und das Standardapplikationsschema von Rituximab das optimale Dosierungsmodell darstellt. Dieses nicht auf der Pharmakokinetik, sondern auf praktisch-logistischen Erwägungen orientierte Vorgehen birgt das Risiko der suboptimalen Dosierung und somit des nicht vollständigen Ausschöpfens des therapeutischen Potentials von Rituximab. Des Weiteren ist bisher ebenfalls ungeklärt, ob es bei den Rituximab-Serumspiegeln Unterschiede zwischen den Geschlechtern gibt. Seit Beginn des 21. Jahrhunderts gab es Untersuchungen zu pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Unterschieden zwischen Männern und Frauen²¹. Frauen verfügen im Vergleich zu Männern in der Regel über ein niedrigeres Körpergewicht, einen höheren Körperfettanteil, ein geringeres mittleres Plasmavolumen und eine geringere Organdurchblutung. Es wurde gezeigt, dass die großen Proteingruppen, die für die Bindung von Medikamenten im menschlichen Plasma verantwortlich sind, von den Geschlechtshormonen beeinflusst werden. Für viele Medikamente wurden bereits unterschiedliche pharmakokinetische Werte bei Männern und Frauen gezeigt. Hinweise auf Unterschiede in der Antikörperpharmakokinetik zwischen den Geschlechtern lieferte eine Studie²² zur unterschiedlichen Pharmakokinetik von anti-D Ig (144kD), welches in Bezug auf chemische Eigenschaften und Molekulargewicht mit Rituximab²³ (145kD) vergleichbar ist. In dieser Studie hatten Frauen eine höhere Plasmakonzentration und ein geringeres Verteilungsvolumen von anti-D Ig als Männer, was am ehesten auf eine geringere Ausscheidung von anti-D Ig bei Frauen zurückzuführen ist. Weitere erste Hinweise auf Unterschiede in der Rituximab-Pharmakokinetik gab die Arbeit von Ng et al.²⁴ bei Patienten mit rheumatoider Arthritis, die zeigen konnte, dass bei Gabe einer fixen Dosis von 1000 mg an d1 und d15 Frauen im Vergleich zu Männern über eine langsamere Rituximab-Clearance verfügen und dass bei Frauen die AUC höher ist. Jäger²⁵ publizierte Pharmakokinetikdaten bei 17 Patienten mit follikulären Lymphomen, nach denen Männer im Vergleich zu Frauen eine niedrigere AUC (81% der Werte der Frauen) hatten. Daten zur unterschiedlichen Rituximab-Pharmakokinetik von Männern und Frauen mit aggressiven CD20 positiven

B-Zell-Lymphomen und einer Kombinationschemotherapie mit CHOP-14 hatte es bis dato noch nicht gegeben.

2.4 Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es daher, das pharmakokinetische Modell von Rituximab in der Erstlinientherapie in Kombination mit CHOP-14 bei Patienten mit aggressiven B-Zell-Lymphomen zu definieren und eventuelle Unterschiede zwischen unterschiedlichen Subgruppen, z.B. zwischen Männern und Frauen, aufzudecken.

3 Material und Methodik

3.1 Studienpopulation, Studiendesigns und klinische Daten des Referenzkollektivs

Die DSHNHL führt seit 20 Jahren prospektive multizentrische klinische Studien auf dem Gebiet der aggressiven Lymphome durch. Die Ergebnisse mehrerer dieser Studien dienten als Vergleichskollektiv für die Untersuchungen zum pharmakokinetischen Modell von Rituximab und der Interpretation der Daten^{10;15;30-36}.

Alle Studien, bzw. ihre Teilstudien wurden in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt, und die Studienprotokolle sind von den Ethikkommissionen der teilnehmenden Zentren genehmigt worden. Des Weiteren wurde die Durchführung der Studien bei der zuständigen Bundesoberbehörde, dem Paul-Ehrlich-Institut Langen, angezeigt. Patienten konnten erst nach der ordnungsgemäß eingeholten schriftlichen Einverständniserklärung in die Studie aufgenommen werden.

Details der statistischen Auswertungen sind in den Originalarbeiten der jeweiligen Studie enthalten. Das *ereignisfreie Überleben* wurde definiert als Zeit von der Randomisation bis zum Progress, zum Rezidiv, zum Beginn einer Rezidivtherapie, zur Gabe (ungeplanter) zusätzlicher Therapie oder zum Tod jeglicher Ursache; das *progressionsfreie Überleben* als Zeit von der Randomisation bis zum Progress, zum Rezidiv oder bis zum Tod jeglicher Ursache und das *Gesamtüberleben* als Zeit von der Randomisation bis zum Tod jeglicher Ursache. Alle durchgeführten Signifikanztests waren zweiseitig. Die statistischen Auswertungen wurden mit SPSS (Version 11.5) und SAS 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) durchgeführt.

Allen Studien gemeinsam ist, dass sie Studien zur Erstlinientherapie bei aggressiven Lymphomen (analog der WHO-Klassifikation²⁶) sind. Die Diagnose musste histologisch gesichert und durch eine referenzpathologische Begutachtung bestätigt sein. In allen Studien wurde (R-) CHOP bzw. eine (R-) CHOP-ähnliche Therapie [z.B (R-) CHOEP] gegeben. Die Auswertung der Daten erfolgte nach dem „Intention-to-treat“-Prinzip. Patienten mit bereits begonnener Therapie, HIV-positive Patienten, Patienten mit eingeschränkten Organfunktionen oder Patienten, die bereits früher eine Chemo- oder Strahlentherapie erhalten hatten, konnten nicht in die Studien eingeschlossen werden.

Als Referenzdaten für ältere Patienten im Alter von 61-75 bzw. 80 Jahren dienten die NHL-

B2-Studie¹⁰, die RICOVER-60-Studie (NCT 00052936)¹⁵, die RICOVER-noRT-Studie (NCT 00052936)²⁷, die Pegfilgrastim-Studie (NCT 00726700)²⁸ sowie die SEXIE-R-CHOP-14-Studie (EudraCT No. 2005-005229-68 und NCT00290667)²⁹.

In diese Studien konnten Patienten mit allen Risikofaktoren gemäß dem „International Prognostic Index“ (IPI) eingeschlossen werden. Der IPI ist ein seit 1993 anerkanntes Vorhersagemodell zur Einschätzung welcher Risikogruppe ein Patient mit aggressivem Non-Hodgkin Lymphom zuzuordnen ist³⁹. Zu den IPI-Faktoren zählen das Alter des Patienten (> 60 Jahre), eine erhöhte Serum Lactatdehydrogenase (LDH), ein fortgeschrittenes Stadium (III oder IV), ein eingeschränkter Allgemeinzustand (ECOG >1) sowie mehr als ein Extranodalbefall.

Die NHL-B2-Studie¹⁰ schloss zwischen September 1993 und Juni 2000 insgesamt 831 Patienten im Alter von 61-75 Jahre ein. Die Studie prüfte in einem 2x2 faktoriellen Design, ob die Therapieergebnisse von 6 Gaben CHOP-21 durch eine Intervallverkürzung auf CHOP-14 oder durch Hinzunahme von Etoposid (CHOEP-21) bzw. durch eine Kombination von beidem (CHOEP-14) verbessert werden können. Die Dosierung im CHOP Regime bestand aus Cyclophosphamid (750 mg/m² i.v. d1), Doxorubicin (50 mg/m² i.v. d1), Vincristin (1,4 mg/m² - max 2 mg absolut i.v. d1) und Prednison (100 mg absolut oral d1-d5 des jeweiligen Zyklus). Um die dosisdichte zweiwöchige Chemotherapiegabe gewährleisten zu können, wurde zur Unterstützung der hämatologischen Regeneration G-CSF (Filgrastim oder Lenograstim) von Tag 4 bis Tag 13 des jeweiligen Zyklus gegeben. Patienten mit Bulky Disease (Tumormasse \geq 7,5 cm) und/oder Extranodalbefall erhielten nach der Chemotherapie eine Bestrahlung dieser Befälle mit 36 Gy. In dieser Studie war Rituximab noch nicht verfügbar und kein Bestandteil der Therapie.

Die RICOVER-60-Studie¹⁵ schloss zwischen Juli 2000 und Juni 2005 1242 Patienten im Alter von 61-80 Jahren ein. In der RICOVER-60-Studie wurden ebenfalls im 2x2 faktoriellen Design sechs mit 8 Zyklen CHOP-14 Chemotherapie mit oder ohne Rituximab verglichen. Alle in die Rituximab-Arme randomisierten Patienten erhielten 8 Applikationen des Antikörpers, jeweils 375 mg/m², jeweils 2-24 Stunden vor der Chemotherapie. Die Patienten wurden 1:1:1:1 in die jeweiligen Arme randomisiert. Patienten mit Bulk und/oder Extranodalbefall erhielten im Anschluss an die Immunochemotherapie eine Bestrahlung dieser Lokalisationen mit 36 Gy.

In der RICOVER-noRTh-Studie²⁷ wurde geprüft, ob auf die Bestrahlung von Bulk bzw. Extranodalbefällen verzichtet werden kann. Sie stellt formal ein Amendment der RICOVER-

60-Studie³⁰ dar, mit identischen Ein- und Ausschlusskriterien. 166 Patienten wurden von Juli 2005 bis Oktober 2007 eingeschlossen. Sie erhielten eine Immunochemotherapie mit 6x R-CHOP-14 + 2x R, also dem besten Arm der RICOVER-60-Studie, jedoch keine Bestrahlung der initialen Bulk- und extranodalen Befälle. Zur Evaluierung der Fragestellung wurden die beiden Kohorten, die die identische Immunochemotherapie erhalten hatten, miteinander verglichen.

Parallel zur RICOVER-60-Studie wurde in Zentren, die nicht an der RICOVER-60-Studie teilnahmen, die Pegfilgrastim-Studie²⁸ durchgeführt. In diese wurden zwischen Mai 2004 und Juli 2005 109 Patienten aufgenommen. Die Patienten erhielten analog zur RICOVER-60-Studie jeweils 6 bzw. 8 Zyklen CHOP-14 jeweils mit bzw. ohne 8 Gaben Rituximab. Eine zusätzliche Randomisation betraf das G-CSF. Patienten in der Pegfilgrastim-Studie erhielten 6 mg des pegylierten Filgrastim entweder an Tag 2 oder an Tag 4 des jeweiligen CHOP-14 Zyklus. Die letzten 18 Patienten erhielten, nachdem die RICOVER-60-Studie bei Überlegenheit des 6x R-CHOP-14 + 2x R-Armes geschlossen war, lediglich noch die Randomisation zur Pegfilgrastimgabe (d2 vs d4).

Die SEXIE-R-CHOP-14-Studie²⁹, eine Phase-II-Studie für Patienten im Alter von 61 – 80 Jahren (EudraCT No. 2005-005229-68 und NCT00290667), wurde von September 2009 bis November 2011 durchgeführt. In dieser erhielten 271 Patienten insgesamt 6 Zyklen CHOP-14, und 8 Gaben Rituximab. Das Rituximab wurde bei Männern und Frauen unterschiedlich dosiert. Männer erhielten in dieser Studie 500 mg/m² Rituximab, Frauen die Standarddosierung von 375 mg/m². Des Weiteren wurde geprüft, ob die Therapieergebnisse des konventionellen vierzehntägigen Rituximab-Applikationsschemas durch eine dosisdichtere Gabe an d-1, d0, d3, d7, d14, d21, d28 und d48 weiter verbessert werden können.

Als Referenzstudien für jüngere Patienten dienten zum einen die MInT-Studie (NCT00400907)³¹, die UNFOLDER-Studie (NCT00278408)³² und zum anderen die MegaCHOEP-Studie (NCT 00129090)³³.

In die in 18 Ländern durchgeführte MInT-Studie¹⁴ wurden zwischen Mai 2000 und Oktober 2003 824 Patienten im Alter von 18-60 Jahren eingeschlossen. Diese wiesen entweder keinen oder einen Risikofaktor nach dem altersadjustierten IPI auf (Stadium III/IV, LDH > ONW, ECOG > 1). Patienten im Stadium I mit Bulk oder Patienten im Stadium II – IV (mit und ohne Bulk) konnten in die Studie aufgenommen werden. Es wurde randomisiert geprüft, ob die Hinzunahme von Rituximab die CHOP oder CHOP-ähnliche Therapie weiter verbessern

kann. Abhängig vom lokalen Standard erhielten die Patienten mit Bulk bzw. Extranodalbefall im Anschluss an die (Immuno-) Chemotherapie eine Bestrahlung mit 30 – 40 Gy. Neben CHOP-21 gab es verschiedene CHOP-ähnliche Regime, die jeweils sechs Mal gegeben wurden. Im dreiwöchigen Abstand waren alternativ CHOEP (CHOP plus 100 mg/m² i.v. oder 200 mg/m² oral Etoposid an d2 – d3), MACOP-B (350 mg/m² Cyclophosphamid i.v. und 50 mg/m² Doxorubicin i.v. jeweils vierzehntägig an d1, 400 mg/m² Methotrexat i.v. an d8, d36 und d64, 1,4 mg/m² Vincristin i.v. jeweils vierzehntägig an d8, 10 mg/m² Bleomycin i.v. an d22, 50, 78 und 40 mg/m² Prednison oral oder i.m. an d1 – 84) und PiMitCEBO (7 mg/m² Mitoxantrone i.v., 300 mg/m² Cyclophosphamid i.v., 150 mg/m² Etoposid i.v. jeweils vierzehntägig an d1, 1,4 mg/m² Vincristin bis max. 2 mg absolut i.v. und 10 mg/m² Bleomycin i.v. jeweils vierzehntägig an d8 und 50 mg Prednison oral an d1-28 und alternierend an d29-84) gegeben.

Zwischen März 2003 und April 2009 wurden 275 Patienten im Alter von 18-60 Jahren in die MegaCHOEP-Studie (NCT00129090)³³ eingebracht. Diese Studie prüfte, ob eine dosiseskalierte Hochdosistherapie zusammen mit Rituximab und anschließender autologer Stammzelltransplantation bei jüngeren Hochrisikopatienten (2 von 3 Risikofaktoren nach dem altersadjustierten IPI) der konventionellen Immunochemotherapie mit 8xR-CHOEP-14 überlegen ist. Patienten, die in den konventionellen Arm randomisiert waren, erhielten acht Zyklen CHOEP-14 (750 mg/m² Cyclophosphamid i.v., 50 mg/m² Doxorubicin i.v. und 2 mg Vincristin i.v., jeweils an d1, 100 mg/m² Etoposid i.v. an d 1-3 und 100 mg absolut Prednison an d1-d5) sowie sechs Gaben Rituximab (375 mg/m² i.v.), jeweils einen Tag vor der Chemotherapie in den Zyklen 1-4, vor Zyklus 6 und vor Zyklus 8. Im MegaCHOEP-Arm erhielten die Patienten vier Zyklen CHOEP in veränderter Dosierung (70 mg/m² Doxorubicin in allen vier Zyklen, in Zyklus eins: 1500 mg/m² i.v. Cyclophosphamid und 600 mg/m² i.v. Etoposid, in den Zyklen zwei und drei: 4500 mg/m² i.v. Cyclophosphamid und 960 mg/m² i.v. Etoposid und in Zyklus vier: 6000 mg/m² i.v. Cyclophosphamid und 1480 mg/m² i.v. Etoposid). Alle drei Wochen nach den Chemotherapiezyklen eins, zwei und, falls notwendig, drei wurden hämatopoetische Stammzellen gesammelt. Die Transplantation fand jeweils nach Zyklus zwei, drei und vier statt. In diesem Arm wurde die Rituximab-Therapie (375 mg/m² i.v.) an den Tagen 0, 14, 36, 56, 77 und 98 gegeben. Alle Patienten mit Bulk und/oder Extranodalbefall erhielten im Anschluss an die Therapie eine Bestrahlung mit 36 Gy.

Die UNFOLDER-Studie³² rekrutiert seit Januar 2006. Es sollen insgesamt 1072 junge Niedrigrisikopatienten mit weniger günstiger Prognose eingeschlossen werden. Sie haben entweder einen Risikofaktor nach dem altersadjustierten IPI oder keinen IPI-Risikofaktor,

dafür dann aber einen Bulkbefall. Die UNFOLDER-Studie prüft zwei Fragestellungen: zum einen, ob die Ergebnisse durch eine dosisdichte, d. h. vierzehntägige Gabe der Immunochemotherapie (6x R-CHOP-14) statt der dreiwöchigen Gabe (6x R-CHOP-21) verbessert werden können, zum anderen soll der Stellenwert einer Bestrahlung von Bulk- und/oder Extranodalbefällen bestimmt werden. In der nach 450 Patienten geplant durchgeführten Zwischenauswertung von Juli 2012 wurde bereits die Strahlentherapiefrage beantwortet. Von 443 auswertbaren Patienten waren 285 mit Bulk und/oder Extranodalbefall in einen Arm mit Strahlentherapie oder Beobachtung randomisiert worden. Das ereignisfreie Überleben der 139 Patienten, die in den Arm mit Bestrahlung randomisiert worden waren, war hochsignifikant besser als das ereignisfreie Überleben der 146 Patienten, die in den Beobachtungsarm randomisiert worden waren. Der Unterschied der ereignisfreien Überlebenskurven der Patienten mit und ohne Bestrahlung erreichte einen p-Wert von 0,004 zugunsten des Therapiearmes mit Bestrahlung und lag damit unter der vordefinierten „alpha spending function“ von $p=0,008$. Das daraufhin einberufene Daten- und Sicherheits-Monitoring-Komitee (DSMK) der UNFOLDER-Studie empfahl daher auf seiner Sitzung am 31. Juli 2012, für Patienten mit „Bulky Disease“ und/oder bestrahlbarem extralymphatischem Befall, die beiden Therapiearme ohne Bestrahlung (R-CHOP-21 ohne Bestrahlung; R-CHOP-14 ohne Bestrahlung) zu schließen, die beiden Therapiearme mit Bestrahlung (R-CHOP-21 mit Bestrahlung; R-CHOP-14 mit Bestrahlung) aber wie geplant fortzusetzen.

3.2 Studienpopulation, Patientenauswahl und Studiendesigns zur Erstellung des pharmakokinetischen Modells von Rituximab

Zunächst wurden die Rituximab-Serumspiegel von 20 Patienten untersucht, welche in 6 verschiedenen deutschen Zentren innerhalb von zwei prospektiven multizentrischen Studien der DSHNHL behandelt wurden. Zum einen wurden diese Patienten innerhalb der RICOVER-60-Studie¹⁵ (8/20 Pharmakokinetikpatienten), zum anderen innerhalb der Pegfilgrastim-Studie²⁸ (12/20 Pharmakokinetikpatienten) behandelt. Patienten aus beiden Studien, die in die Rituximab-Arme randomisiert worden waren, wurden gefragt, ob sie bereit wären, an einer zusätzlichen Pharmakokinetikstudie teilzunehmen.

Alle an der Pharmakokinetikstudie teilnehmenden Patienten unterschrieben zusätzlich zur Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Hauptstudie eine weitere Einverständniserklärung zur Teilnahme an der pharmakokinetischen Studie von Rituximab.

3.2.1 Serumproben

Jeweils 10 Minuten vor und 10 Minuten nach jeder Rituximab-Applikation wurden jedem Patienten 10 ml Blut abgenommen, um die jeweils niedrigsten und höchsten Rituximab-Serumspiegel zu messen. Zusätzliche Blutabnahmen erfolgten 1 Woche sowie 1, 2, 3, 6 und 9 Monate nach der letzten Rituximab-Infusion. Die Serumspiegelproben vor der Rituximab-Infusion wurden aus der Venenverweilkanüle abgenommen, die Proben nach der Infusion wurden entweder aus einer anderen Braunüle oder –idealerweise- aus einer venösen Blutentnahme am gegenüberliegenden Arm abgenommen.

Die Proben wurden bei Raumtemperatur 10 Minuten lang bei 1000g zentrifugiert und anschließend bei -20°C bis zum Versand gelagert. Der Versand zur Analyse erfolgte auf Trockeneis durch QPS Holdings, 9700 AC Groningen, Niederlande.

3.2.2 Bestimmung der Rituximab-Konzentrationen

Die Bestimmungen der Rituximab-Serumspiegel wurden von Xendo Laboratories, 2333 CM Leiden in den Niederlanden durchgeführt. Zur Bestimmung des Rituximab-Serumspiegels mittels ELISA wurden hoch-absorptive 96-Loch Mikrotiter Platten (Nunc MaxiSorp®, Affymetrix, USA) verwendet, welche mit einem polyklonalen Ziegen anti-Rituximab Antikörper überzogen worden waren^{17;40;41}. Gebundenes Rituximab wurde mittels Ziege-anti-Maus-IgG F(ab')₂ Fragmenten nachgewiesen, welche mit Peroxidase konjugiert worden waren. Anschließend wurde gebundene Peroxidase mithilfe einer chromogenen Reaktion sichtbar gemacht. Die Konzentration von Rituximab wurde anhand einer Standardkurve ermittelt. Alle Proben wurden in einer 100-fachen Verdünnung mindestens doppelt gemessen. Die Durchschnittswerte wurden für die pharmakokinetische Analyse verwendet. Die validierten oberen und unteren Bestimmungsgrenzen der 100-fach verdünnten Proben lagen bei 500 bzw. 15.000 ng/mL. Der akzeptierte Variationskoeffizient (relative Standardabweichung) der Ergebnisse der doppelten Messung der Proben lag bei ≤20%. Wenn die Proben dieses Kriterium nicht erfüllten, wurden sie als Ausreißer betrachtet und gingen nicht in die Analyse ein.

3.2.3 Pharmakokinetische Analyse

Die populations-pharmakokinetische Analyse auf der Grundlage der Rituximab-Zeit-Konzentrationsverläufe und der klinischen Daten wurden am Institut für Pharmakologie der

Universität Köln durchgeführt. Die gemessenen Daten wurden in ein Standardkalkulationsprogramm (Microsoft Excel 2007; SP2 MSO) importiert und anschließend in einem ersten explorativen Analyseschritt mit dem Pharmakokinetikprogramm Mw/Pharm Version 3.5³³ analysiert bzw. grafisch dargestellt. Die Simulation der Rituximab-Konzentrationen basierte auf einem offenen Zweikompartimentmodell und Anpassungsprozedur nach Bayes, um die pharmakokinetischen Parameter und ihre typischen Werte als integraler Bestandteil der NONMEM-Analyse (Nonlinear Mixed Effects Model) abzuschätzen. Die folgenden pharmakokinetischen Parameter wurden untersucht: maximale Konzentration (C_{\max}), Talspiegel (C_{\min}), Halbwertszeit ($t_{1/2\beta}$), Verteilungsvolumen im Steady-state ($V_{d_{ss}}$) und die Clearance (Cl).

3.2.4 Population der pharmakokinetischen Analyse und Modellerstellung

In einem zweiten Schritt wurde mittels NONMEM VI Version 2.0 eine populations-pharmakokinetische Auswertung durchgeführt. Das Programm berechnet mithilfe nichtlinearer Regressionmodelle sogenannte Populationsmittelwerte von allen relevanten pharmakokinetischen Parametern (Cl, $t_{1/2\beta}$, s. oben). Zudem werden Variabilität und die entsprechenden individuellen Werte für jeden Einzelprobanden ermittelt.

Dabei wird zwischen den fixen und den zufälligen Effekten unterschieden: Zu den fixen Effekten gehören die Populationsmittelwerte der PK-Größen, unabhängige Größen wie die Dosierung und die Zeit, und weitere Einflussgrößen wie Alter oder Geschlecht. Mit den zufälligen Effekten sind die inter- und intraindividuelle Variabilität gemeint.

Vergleichbar mit der populations-pharmakokinetischen Analyse von Rituximab von Blasco et al.¹⁶ 2009 bei Patienten mit B-Zell-Lymphomen unter R-CHOP konnten wir auf der Grundlage einer NONMEM-spezifischen subroutine „ADVAN3 TRANS3“ (zentrales Kompartiment; peripheres Kompartiment; Eliminations-Kompartiment) ein strukturelles Zweikompartimentmodell definieren, das die beste Anpassung der modellabhängig ermittelten Werte an die erhobenen Messwerte zeigte. Die korrespondierenden pharmakokinetischen Parameter: Clearance (Cl), zentrales Volumen (V_1), interkompartimentelle Clearance (Q) und Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ($V_{d_{ss}}$) wurden berechnet. Die Eliminationshalbwertszeit wurde folgendermaßen berechnet:

$$T_{1/2\beta} = 0,693 \times V_{d_{ss}} \times Cl^{-1}$$

3.2.5 Modellerstellung

Zur Vorhersage der Plasmakonzentrationen von Rituximab und der pharmakokinetischen Parameter wurde eine populationsbasierte Analyse durchgeführt. Im ersten Schritt der Modellerstellung wurde ein Zweikompartimentmodell entwickelt, das als strukturelles Basismodell (ohne Kovariaten, aber mit einer interindividuellen Variabilität bezüglich der pharmakokinetischen Parameter) dienen sollte. Es wurde eine explorative Analyse mit Hilfe von APO/Mediware durchgeführt, um eine Vorstellung der “typischen Werte” der Schätzparameter (z.B. Clearance und Verteilungsvolumen) zu erhalten.

Ein exponentielles Fehlermodell wurde gewählt, um die interindividuelle Variabilität der kinetischen Parameter entsprechend der folgenden Gleichung darzustellen:

$$\theta_i = \theta' \times \exp(\eta_{\theta j})$$

Die Abkürzungen bedeuten Folgendes:

θ_i (Theta) steht für den Schätzer des pharmakokinetischen Parameters im i -ten Individuum, θ' ist der Mittelwert des pharmakokinetischen Parameters in der Population, $\eta_{\theta j}$ (Eta) ist die Zufallsvariable mit dem Mittelwert 0 und die Varianz ω^2 (Omega, interindividuelle Variabilität des pharmakokinetischen Parameters) differenziert den pharmakokinetischen Parameter des i -ten Individuums vom Mittelwert der Population des strukturellen Basismodells.

Die 95% Konfidenzintervalle (95% CI) für die jeweiligen Parameter des populationsbasierten Modells wurden folgendermaßen berechnet:

$$95\% \text{ CI} = \theta \pm \text{SE} \times Z$$

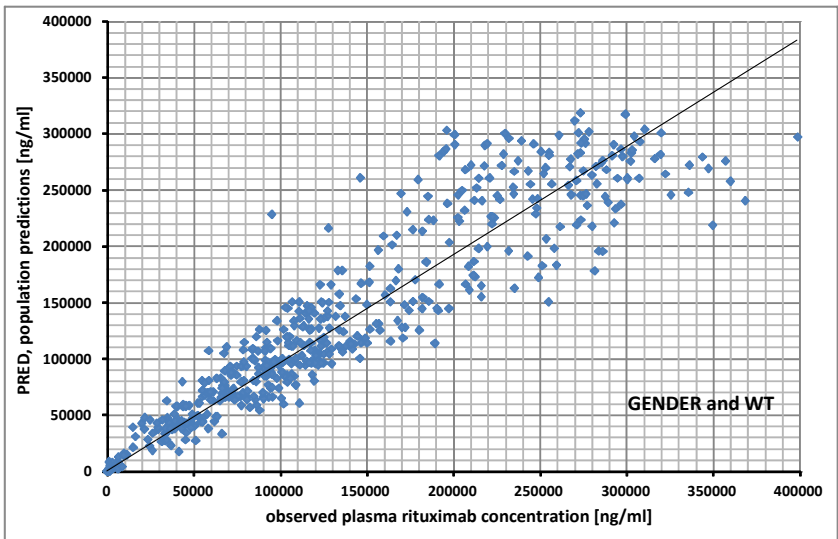
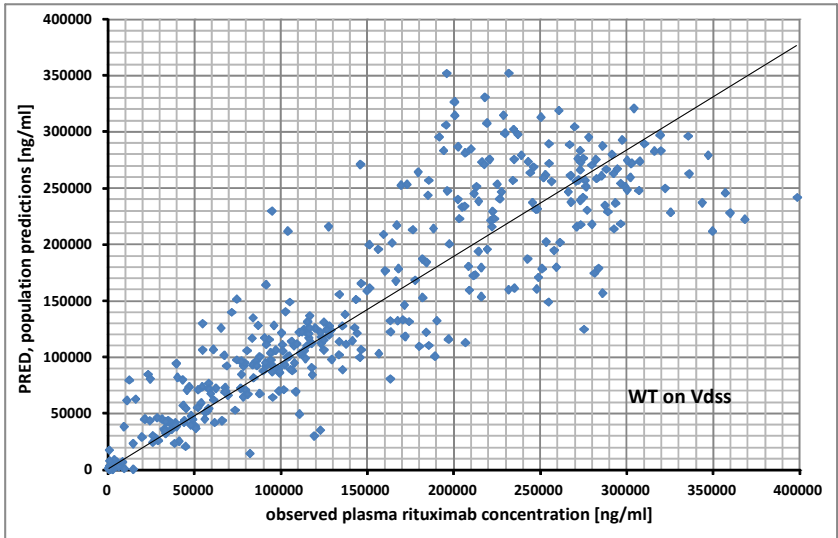
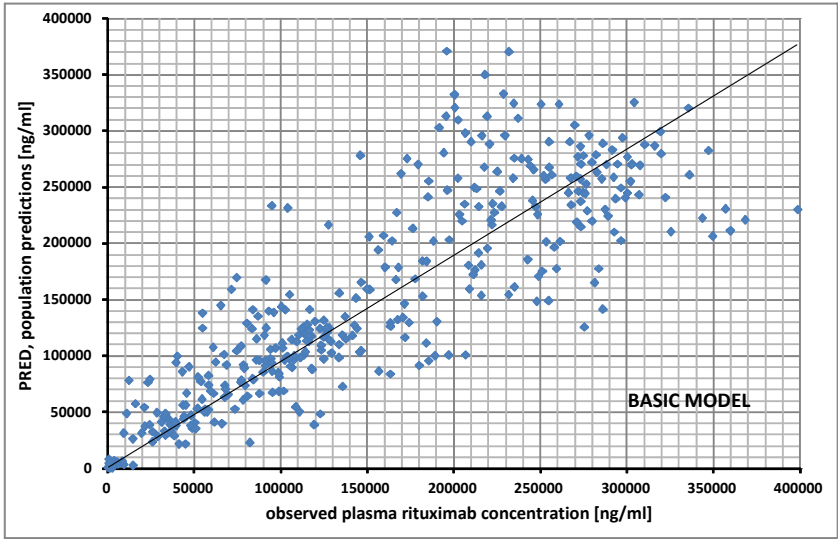
Hier steht θ für den Schätzer des Parameters der Population, SE repräsentiert den Standardfehler des berechneten Schätzparameters und $Z = 1,96$ ist der Intervallkoeffizient für die standardisierte Normalverteilung des 95% CI. Ein proportionales Fehlermodell wurde für die verbleibende Variabilität angewandt, um die Abweichungen zwischen den Modellvorhersagen und den Rituximab-Plasmakonzentrationen zu beschreiben:

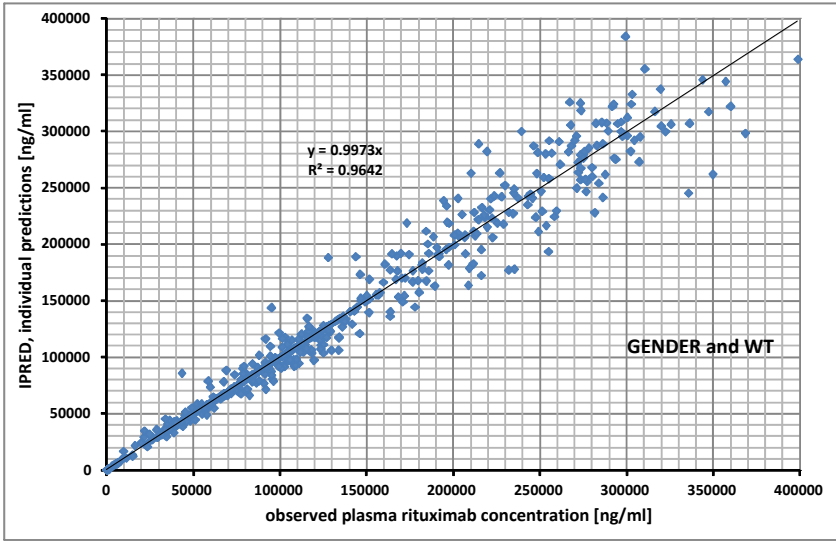
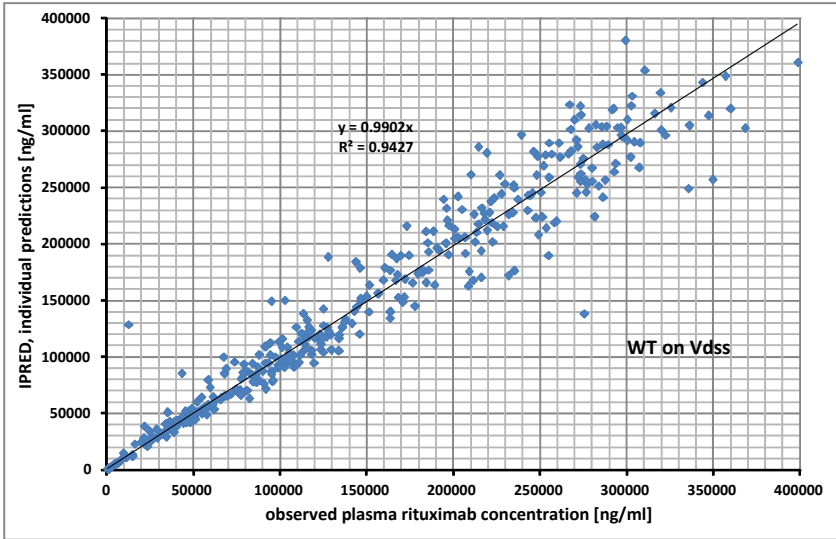
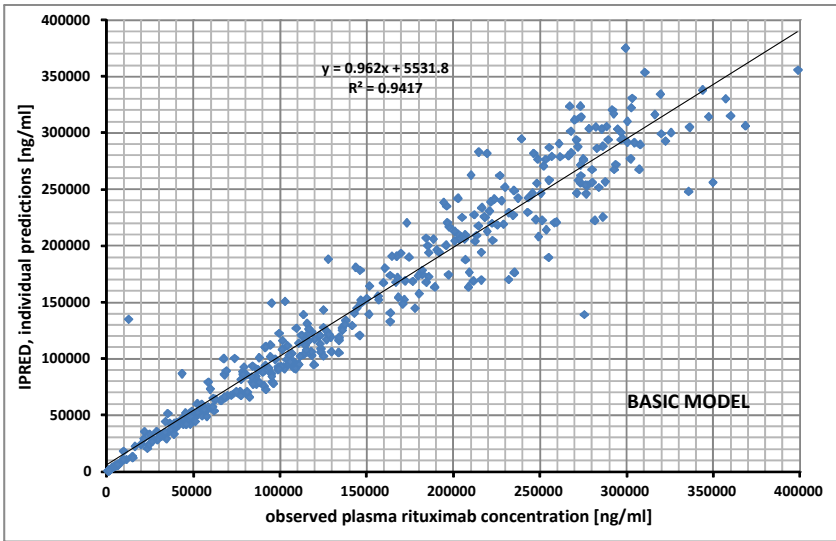
$$C_{ij} = C_{p_{ij}} \times (1 + \epsilon_{ij})$$

Dabei stellt C_{ij} die gemessene Konzentration des i -ten Individuums zum Zeitpunkt j dar. Cp_{ij} steht für die Modellberechnung des Individuums, welche die Konzentration im Individuum i zum Zeitpunkt j vorhersagt und ϵ_{ij} (Epsilon) beschreibt die unabhängigen, identisch verteilten statistischen Fehler mit Mittelwert 0 und Varianz σ^2 (Sigma).

Die Güte der Anpassung wurde wie folgt beurteilt:

Eine Verbesserung der OFV („objective function value“: die OFV ist ein Zahlenwert, der aus der Summe der gewichteten Abweichungsquadrate ermittelt wird; je kleiner dieser Wert wird, desto besser ist die Anpassung) von mehr als 3,84 bei direktem Vergleich zwischen strukturellem und kovariatem Modell wurde als signifikante Verbesserung betrachtet ($p < 0,05$) (Abbildung 1).





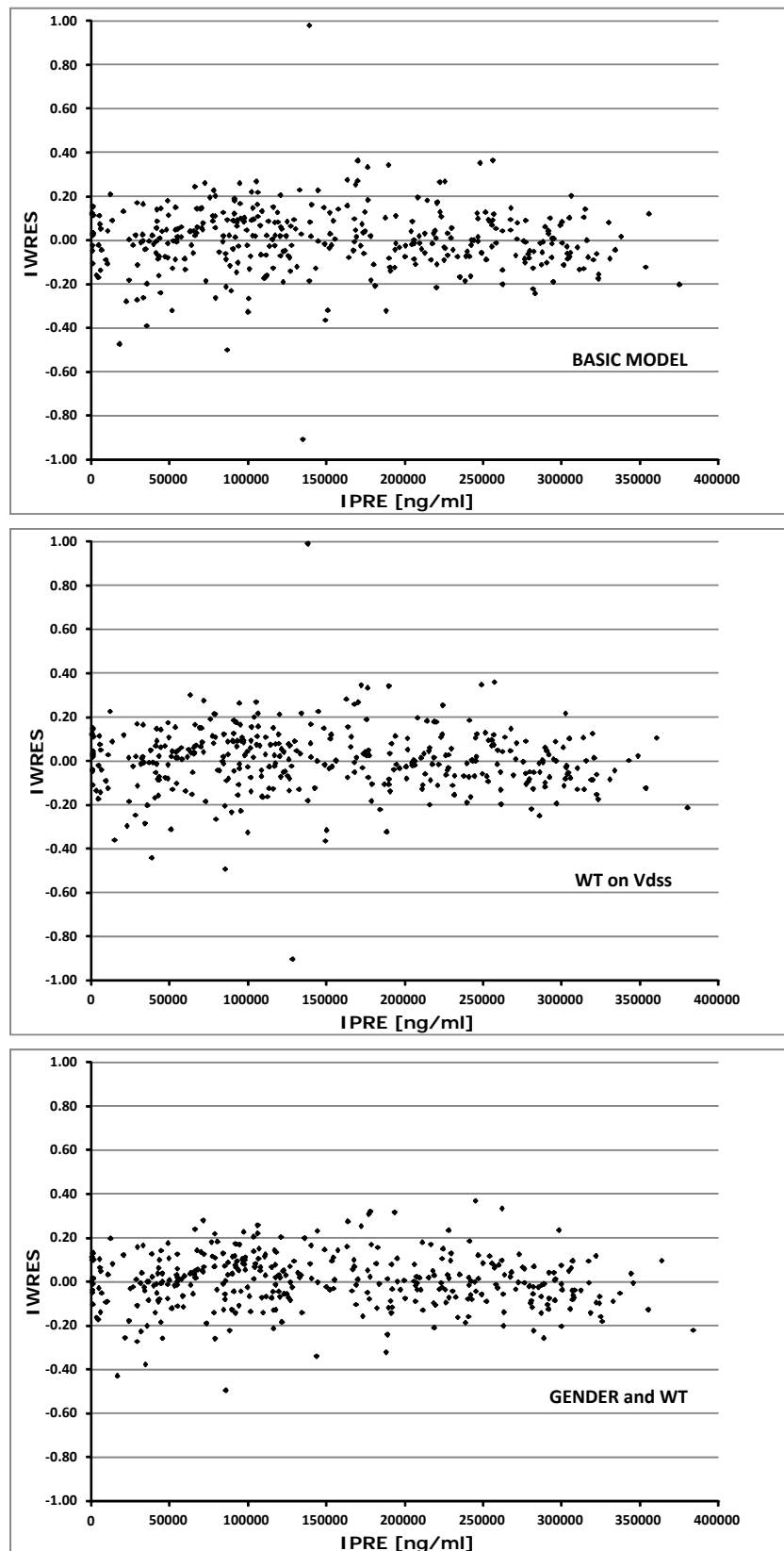


Abbildung 1: „Goodness-of-fit plots“ und Verbesserung innerhalb des Basismodells. Übersicht über die “goodness-of-fit plots” und die Optimierung des Basismodells (jeweils oberes Bild) für Rituximab nach Einführung der Kovariaten (mittleres Bild: nur Gewicht unteres Bild: Gewicht und Geschlecht). Die durchgezogene Linie zeigt die Regressionsgerade mit $R^2=1.0$ bei DV=IPRED/PRED (theoretischer Idealfall). Abbildungen auf der Seite 19: Vorhergesagte (PRED) zu gemessene Konzentrationen (DV). Abbildungen auf der Seite 20: Individuelle Vorhersage (IPRED) zu gemessenen Konzentrationen (DV). Abbildungen auf der Seite 21: Vorhersage des populationsbasierten Modells zu gewichteten Störgrößen des populationsbasierten Modells.

3.2.6 Evaluation des Modells

Die Robustheit der endgültigen pharmakokinetischen Modellparameter wurde insbesondere durch eine Bootstrap-Analyse ausgewertet, welche insgesamt 500 erfolgreich replizierte Datensatzdurchläufe ermittelte. Dabei wurde das PLTTools Software Paket, eine graphische Schnittstelle des NONMEN Systems, verwendet (PLTsoft, San Francisco, CA 94116, USA).

Der Vergleich des alternativen Strukturmodells und die Einführung von Kovariaten in das endgültige Modell basierten auf „Goodness of fit Plots“ (s. oben S. 19-21). Eine visuelle Voraussageprüfung diente als zusätzliches Instrument zur Beurteilung der beobachteten und vorhergesagten Daten.

3.2.7 Simulationen

Simulationen der Zeit–Konzentrationsverläufe von Rituximab wurden mithilfe von APO/Mediware (Version 3.50) durchgeführt, um zu untersuchen, welchen Einfluss das dosisdichte R-CHOP mit 14-tägiger Rituximab-Applikation auf die Serumkonzentrationen hat. Diese Simulationen basierten auf einem Zweikompartimentmodell, welches eine adäquate Charakterisierung der Verfügbarkeit von Rituximab in allen Patienten ermöglicht. Die folgenden Rituximab-Parameter wurden mitberücksichtigt, welche den Pharmakokinetikdaten der NONMEN-Analyse entsprachen: Cl , Volumen des zentralen Kompartiments (V_c), Vd_{ss} , sowie die Verteilungshalbwertszeit ($t_{1/2\alpha}$) und die Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2\beta}$).

3.2.8 Statistische Analyse

Die Software IBM SPSS Version 19.0.0 (2010) wurde zur statistischen Auswertung der demografischen Daten benutzt. Die statistische Auswertung wurde am Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie der Universität Leipzig (IMISE) in Leipzig durchgeführt.

3.3 Zusätzliche Untersuchungen nach Erstellung des pharmakokinetischen Modells

Nachdem das pharmakokinetische Modell erstellt worden war, wurden die pharmakokinetischen Untersuchungen um weitere 62 Patienten erweitert. Von diesen waren 29 Patienten über 60 Jahre alt. Sie wurden in der SEXIE-R-CHOP-14-Studie²⁹ der DSHNHL behandelt und waren in den Standardarm randomisiert worden (6x R-CHOP-14 + 2x R, wobei Frauen 375 mg/m² Rituximab und Männer 500 mg/m² Rituximab erhielten). Aus der

UNFOLDER-Studie stammten 33 jüngere Patienten im Alter von 18-60 Jahren. Von diesen erhielten 18 Patienten 6 Zyklen R-CHOP in vierzehntägigem Abstand, 15 erhielten ebenfalls 6 Zyklen R-CHOP, aber in dreiwöchigem Abstand.

Alle Patienten, welche in diese zusätzliche pharmakokinetische Studie eingebracht worden waren, hatten eine normale Leber- und Nierenfunktion. Die Blutentnahmen und das Nachweisverfahren für Rituximab mittels ELISA wurden, wie bei der Erstellung des Modells, identisch durchgeführt. Das gleiche gilt für die pharmakokinetischen Eigenschaften von Rituximab (Erstellung eines populationsbasierten Modells, pharmakokinetische Analyse, Validierung des Modells). Diese wurden ebenfalls mittels NONMEM VI Version 2.0 (Nonlinear Mixed Effects Model) durchgeführt. Die statistische Auswertung der demographischen Daten der pharmakokinetischen Studie erfolgte wiederum mithilfe des IBM SPSS Version 19.0.0 2010 (SPSS, Ehningen, Deutschland).

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse zur Untersuchung des pharmakokinetischen Modells von Rituximab

Von 20 Patienten aus der RICOVER-60- und Pegfilgrastim-Studie^{28;30} (11 Frauen und 9 Männer, 8 Patienten aus der RICOVER-60-Studie, 12 aus der Pegfilgrastim-Studie) wurden die pharmakokinetischen Daten erhoben. Es bestand keine Korrelation zwischen der renalen und der hepatischen Funktion und den Rituximab-Serumspiegeln innerhalb der Geschlechter und kein Unterschied zwischen der renalen und hepatischen Funktion zwischen männlichen und weiblichen Patienten, welche in die pharmakokinetische Studie eingebracht worden waren (Tabelle 1). Keiner dieser Patienten hatte eine Begleitmedikation, welche die Leber- oder Nierenfunktion beeinträchtigte

Wie in Tabelle 2 zu sehen ist, hatten die Patienten, die in die Pharmakokinetik-Studie eingebracht worden waren, im Vergleich zur Population der RICOVER-60- und Pegfilgrastim-Studie seltener ein Stadium III, dafür häufiger ein Stadium IV, und sie gehörten seltener zur Gruppe mit intermediär-hohem Risiko gemäß dem IPI, aber häufiger der Hochrisikogruppe an. Von diesen Parametern abgesehen unterschieden sich die Patientencharakteristika der Probanden nicht von denen der Gesamtpopulation der beiden Studien. Auch die Therapieergebnisse der Patienten, die in die pharmakokinetische Teilstudie eingebracht worden waren, ähnelten denen der gesamten RICOVER-60-Studienpopulation: 18 Patienten erreichten eine komplette Remission bzw. eine unbestätigte komplette Remission, ein Patient eine partielle Remission und ein Patient hatte einen primären Progress.

Tabelle 1: Charakteristik der Patienten in der pharmakokinetischen Teilstudie

Demographie	Durchschnitt (Intervall) oder N (%)		
	Frauen	Männer	Alle
Alter (Jahre)	69 (61 – 79)	69 (61 - 75)	69 (61 - 79)
Gewicht (kg)	67 (43 - 85)	82 (69 - 122)	75 (43 – 122)
Körperoberfläche (m ²)	1,7 (1,5 - 1,9)	2,0 (1,8 – 2,4)	1,8 (1,5 – 2,4)
Geschlecht (männlich/weiblich)	9 (45) / 11 (55)		
Ethnische Zugehörigkeit, kaukasisch	20 (100)		
Klinisch	Frauen	Männer	Alle
Alkalische Phosphatase (U·l ⁻¹)	79 (50 - 130)	70 (56 - 123)	79,0 (50,0 – 133,0)
Bilirubin (mg/dl)	0,4 (0,2 – 1,0)	0,5 (0,3 – 0,6)	0,5 (0,2 – 1,0)
γ-Glutamyl-Transferase (U·l ⁻¹)	40 (20 - 201)	39 (32 - 144)	38,0 (19,0 – 201,0)
Kreatinin (mg/dl)	0,7 (0,6 – 1,4)	1,0 (0,7 – 1,2)	1,0 (0,6 – 1,4)

Tabelle 2: Charakteristik der Patienten in der pharmakokinetischen Teilstudie (n=20) im Vergleich mit der Charakteristik aller Patienten in der RICOVER-60-Studie (n=1222)

Risikofaktoren	Pharmakokinetische Studie [n]	RICOVER-60 [n]
LDH>ONW	10 (50%)	604 (49%)
ECOG>1	3 (15%)	176 (14%)
Stadium I	4 (20%)	268 (22%)
Stadium II	5 (25%)	335 (27%)
Stadium III	2 (10%)	316 (26%)
Stadium IV	8 (40%)	303 (25%)
Extranodalbefälle >1	3 (15%)	216 (18%)
Bulkbefall (≥7,5 cm)	5 (25%)	463 (38%)
IPI 1	1 (5%)	372 (30%)
IPI 2	7 (35%)	339 (28%)
IPI 3	6 (30%)	313 (26%)
IPI 4, 5	2 (10%)	198 (16%)

4. 1.1 Rituximab-Serumspiegel

Die Blutproben wurden zwischen Januar 2005 und Juni 2006 gesammelt. Während der Behandlungsphase mit Rituximab wurden bei >90% der Patienten alle geplanten Serumproben abgenommen, während hingegen nach der letzten Rituximab-Infusion bei lediglich 50% der Patienten zu jedem geplanten Zeitpunkt die Sammlung der Proben für die Pharmakokinetik erfolgte. Die Patienten erhielten pro Zyklus im Durchschnitt eine absolute Dosis von 671 mg Rituximab (Intervall von 593-881 mg). Die Talspiegel der Rituximab-Serumkonzentration stiegen im Verlauf aller 8 Zyklen R-CHOP an, was auf eine Akkumulation von Rituximab im Serum hinweist, und ein Plateau wurde bis zur achten und somit letzten Rituximab-Gabe nicht erreicht (Abbildung 2 und Tabellen 3 und 4). Nach Ende der Therapie fielen die Serumspiegel kontinuierlich ab und 9 Monate nach der letzten Infusion näherten sich die Rituximab-Serumspiegel dem Ausgangswert an. Dennoch war zu diesem Zeitpunkt Rituximab noch bei 9 von 10 auswertbaren Patienten nachweisbar.

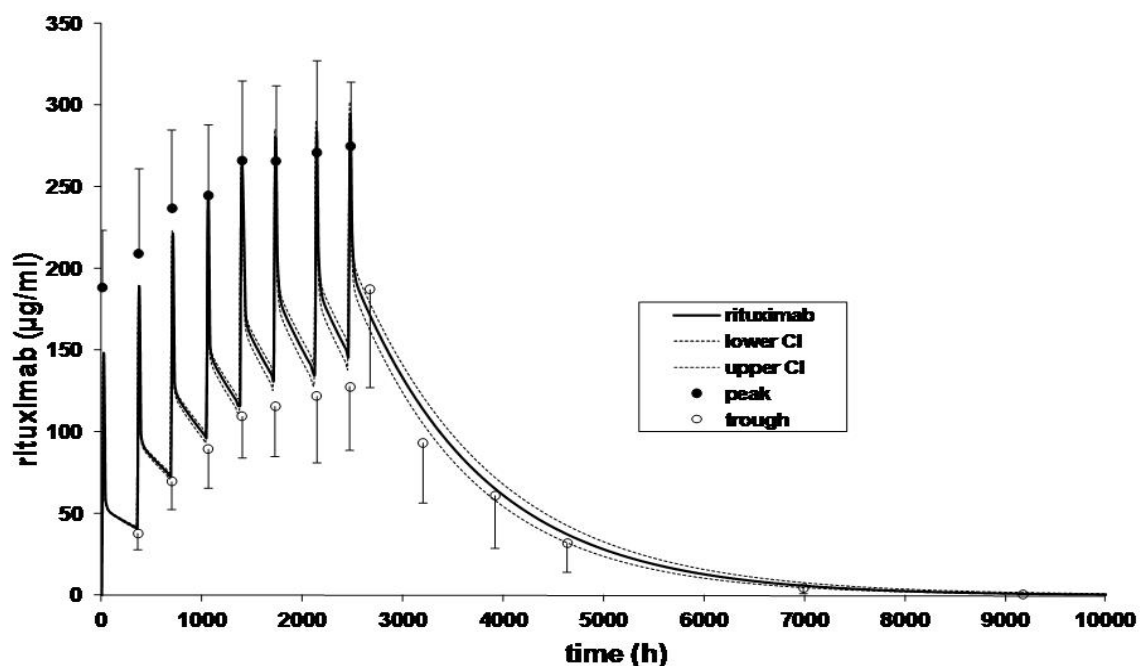


Abbildung 2: Simulation der Rituximab-Serumspiegel mit APO/Mediware Version 3.50. Dargestellt sind die simulierten durchschnittlichen Konzentrationsprofile von Rituximab (schwarze Linie) und die 90% Konfidenzintervalle (CI). Angegeben sind die Spitzenspiegel (• peak) 10 Min. nach Ende und Talspiegel (◦ trough) gemessen unmittelbar vor der nächsten Rituximab-Applikation. Das PK Modell basiert auf folgenden Durchschnittswerten der PK Parameter: $Cl = 9,9 \text{ ml/h}$, $V_1 (\text{l/kgLBMc}) = 4,39 \text{ l}$, $V_{d_{ss}} = 12,8 \text{ l}$, $t_{1/2\alpha} = 8,47 \text{ h}$, $t_{1/2\beta} = 896 \text{ h}$ (37 Tage) der 20 mit R-CHOP-14 behandelten Patienten analog des Zweikompartimentmodells. LBMc bezeichnet das für die Fettverteilung von Rituximab korrigierte Körpergewicht.

Tabelle 3: Durchschnittliche Dosis von Rituximab und Infusionsrate in der pharmakokinetischen Teilstudie

Rituximab	Durchschnitt (Minimum-Maximum)
durchschnittliche Dosis (mg)	671 (593 – 881)
Infusionsrate (mg×h ⁻¹)	224,4 (58,1 – 554,7)

Tabelle 4: Serum-Tal- und Spitzenspiegel von Rituximab unter R-CHOP-14 (n=20), gemessen unmittelbar vor bzw. 10 Min. nach der Applikation

Rituximab		Durchschnitt (Intervall) [µg/ml]	n (%)
Zyklus 1	vor	0	20 (100)
	nach	179,8 (133,9 – 254,8)	18 (90)
Zyklus 2	vor	38,9 (21,3 – 61,8)	19 (95)
	nach	219,3 (94,9 – 281,4)	19 (95)
Zyklus 3	vor	67,8 (47,0 – 108,8)	19 (95)
	nach	224,2 (159,4 – 349,6)	18 (90)
Zyklus 4	vor	93,0 (40,2 – 135,7)	20 (100)
	nach	251,9 (146,0 – 296,6)	19 (95)
Zyklus 5	vor	110,3 (54,9 – 156,7)	20 (100)
	nach	250,0 (191,6 – 359,8)	20 (100)
Zyklus 6	vor	118,0 (65,4 – 185,5)	18 (90)
	nach	275,1 (195,5 – 368,3)	20 (100)
Zyklus 7	vor	124,9 (24,5 – 206,8)	19 (95)
	nach	280,0 (185,5 – 398,7)	20 (100)
Zyklus 8	vor	115,9 (61,0 – 197,0)	18 (90)
	nach	273,2 (200,5 – 356,9)	19 (95)
1 Woche nach Therapie		172,6 (91,4 – 286,1)	14 (70)
1 Monat nach Therapie		91,4 (39,6 – 189,1)	17 (85)
2 Monate nach Therapie		54,0 (16,1 – 122,9)	16 (80)
3 Monate nach Therapie		30,1 (9,33 – 82,2)	16 (80)
6 Monate nach Therapie		5,1 (0,8 – 14,7)	15 (75)
9 Monate nach Therapie		1,1 (0 – 2,8)	10 (50)

4.1.2 Simulation der pharmakokinetischen Parameter

Um die Auswirkungen der dosisdichten Gabe von R-CHOP mit einer Rituximab-Gabe im 14-tägigen Intervall auf die Serumspiegel zu untersuchen, wurde eine auf der untersuchten Population basierende pharmakokinetische Simulation von Rituximab durchgeführt. Hierzu wurde ein Zweikompartimentmodell benutzt, welches eine adäquate Charakterisierung der Verfügbarkeit von Rituximab bei allen Patienten ermöglichte. Basierend auf den Tal- und Spitzenspiegeln von Rituximab im Serum während der 8 Applikationen und den Messungen an 6 Zeitpunkten nach der letzten Applikation wurde eine individuell angepasste Berechnung durchgeführt. Es erfolgte eine Schätzung folgender pharmakokinetischer Parameter für jeden einzelnen Zyklus und jeden einzelnen Patienten, der die Studie beendete: Cl , $t_{1/2\alpha}$ und $t_{1/2\beta}$, V_c und Vd_{ss} (APO/Mediware 3.50) (Tabelle 5).

In diesem Modell betrug die durchschnittliche $t_{1/2\beta}$ 37 Tage und die Talspiegel stiegen von 38,9 $\mu\text{g/ml}$ nach der ersten Gabe auf 140 $\mu\text{g/ml}$ nach dem achten Zyklus. Eine stationäre Konzentration wurde aufgrund der relativ langen Halbwertszeit der Elimination nicht erreicht (Abbildung 2).

Tabelle 5: Rituximab-Pharmakokinetikparameter der Population, dargestellt als Punktschätzer mit dem zugehörigen 95% Konfidenzintervall im strukturellen Basismodell und Modelle mit Kovariaten und Bootstrap-Analyse

Parameter	Modell 1 (strukturelles Basismodell)	Modell 2 (Kovariate: Einfluss des Gewichts auf V)	Modell 3 (Kovariate: Einfluss der Geschlechts auf Cl)	Modell 4 (Kovariate: Einfluss von Geschlecht/Gewicht auf Cl)	Bootstrap Analyse (500 Wiederholungen)
Objektive Funktion	7715,842	7695,438	7705,229	7689,212	
Δ objektive Funktion	-	-20,40	-10,61	-26,63	
Manifeste Clearance, alle (Cl, ml/h)	9,43 (8,05 – 10,81)	9,42 (8,05 – 10,79)	–	–	9,55 (9,48 – 9,61)
Inter-individuelle Variabilität ^a [%]	33,17	32,71	–	–	–
Manifeste Clearance (Cl, ml/h; ♀)	–	–	7,77 (6,68 – 8,86)	8,21 (7,16 – 9,26)	–
Inter-individual Variabilität ^a [%]			24,19	18,60	–
Manifeste Clearance (Cl, ml/h; ♂)	–	–	11,90 (9,74 – 14,06)	12,68 (10,07 – 15,30)	–
Inter-individuelle Variabilität ^a [%]	–	–	26,85	18,60	–
Zentrales Volumen (V, Liter)	3,88 (3,48 – 4,28)	3,88 (3,49 – 4,27)	3,88 (3,47 – 4,28)	3,87 (3,77 – 3,97)	3,92 (3,91 – 3,94)
Inter-individuelle Variabilität ^a [%]	22,23	22,52	22,29	22,49	–
Interkompartimentelle Clearance (Q, ml/h)	17,2 (9,73 – 24,67)	17,2 (11,03 – 23,37)	17,1 (12,28 – 21,92)	16,3 (10,93 – 21,67)	18,78 (18,37 – 19,19)
Inter-individual Variabilität ^a [%], fix	–	–	–	–	–
Verteilungsvolumen (Vd_{ss}, Liter)	9,61 (8,44 – 10,78)	9,82 (8,76 – 10,88)	9,60 (8,51 – 10,69)	9,45 (8,26 – 10,64)	9,61 (8,61 – 10,9)
Inter-individuelle Variabilität ^a [%]	18,79	14,66	18,95	20,42	
Residuelle Variabilität [%]	13,49	13,23	13,45	13,30	

a: Variabilität unter den Patienten (Quadratwurzel von ω^2); b: residuelle Variabilität (Quadratwurzel von σ^2); c: 95% CI = 1,96 × Standardfehler

4.1.3 NONMEN Analyse

Die einzelnen Daten zur Rituximab-Serumkonzentration pro Zeitpunkt wurden in ein offenes Zweikompartimentmodell eingegeben, und die folgenden populationsbasierten pharmakokinetischen Parameter wurden, basierend auf dem am besten passenden Unterprogramm ADVAN3 TRANS3, untersucht: Cl, V_c , Q und $V_{d_{ss}}$. Die endgültigen Parameter, welche basierend auf dem Strukturmodell berechnet wurden, waren: Cl = 9,43 ml/h (95% CI, 8,05 – 10,81 ml/h) und $V_{d_{ss}}$ = 9,61 l (95% CI, 8,44 – 10,78 l) mit einer interindividuellen Variabilität der Cl von 33,2%, welche nicht durch die Kovariaten erklärbar ist. Der Variationskoeffizient für die Rest-Variabilität betrug 13,5%. Für die gesamte Population betrug die berechnete $t_{1/2\beta}$ = 27,1 Tage.

Die Clearance wurde merklich vom Geschlecht und Gewicht der Patienten beeinflusst (Abbildung 3) und war bei Patientinnen (Cl = 8,21 ml/h; 95% CI, 7,16 – 9,26 ml/h) im Vergleich zu Patienten (Cl = 12,68 ml/h; 95% CI, 10,07 – 15,30 ml/h; $p=0,003$ mit dem t-Test und $p=0,003$ mit dem Mann-Whitney U-Test) deutlich reduziert. Die Berechnung der Gesamtclearance von Männern und Frauen basierte auf dem die endgültigen Kovariaten enthaltenden Modell:

$$Cl = (\Theta_{TVCl} + \Theta_{WT} \times (WT - 75,2)) \times \exp(\eta_{TVCl})$$

Die Clearance war mit der Halbwertszeit von Rituximab invers korreliert mit einer signifikant kürzeren $t_{1/2\beta}$ von 24,7 Tagen bei Männern verglichen mit 30,7 Tagen bei Frauen ($p=0,003$ mit dem t-Test und $p=0,003$ mit dem Mann-Whitney U-Test). Es zeigte sich, dass das Körpergewicht ebenfalls einen Einfluss auf das Verteilungsvolumen hat (0,1 l Anstieg des $V_{d_{ss}}$ pro Kilogramm Körpergewicht über dem durchschnittlichen Körpergewicht von 75 kg).

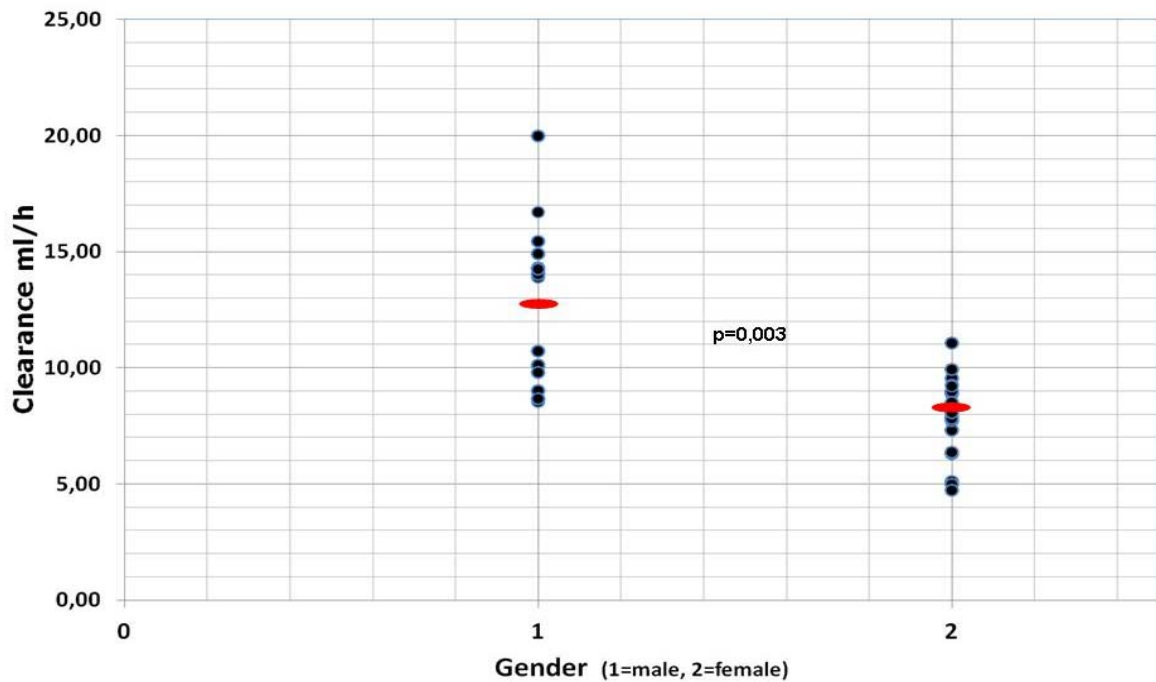


Abbildung 3: Clearance von Rituximab bei älteren männlichen und weiblichen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen. 1= Männer; 2 = Frauen. Die rote Markierung stellt jeweils den Durchschnittswert dar.

Geschlecht und Gewicht beeinflussten unabhängig voneinander die Rituximab-Clearance bzw. die Serumhalbwertszeit. In den in Tabelle 6 gezeigten Beispielen ist die Rituximab-Clearance eines Mannes mit einem Körpergewicht 25% über dem durchschnittlichen Körpergewicht der anderen männlichen Patienten in unserer Studie (111,0 kg) annähernd 1,4-fach schneller als die Rituximab-Clearance eines Patienten mit einem Körpergewicht 25% unterhalb des durchschnittlichen Körpergewichts (66 kg). Umgekehrt beträgt die Serumeliminationshalbwertszeit bei diesen zwei Beispielpatienten 18 bzw. 30 Tage (Tabelle 6).

Tabelle 6: Einfluss des Gewichts auf die Rituximab-Clearance und Serumhalbwertszeit bei älteren männlichen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen

	Durchschnitt	Durchschnitt +25%	Durchschnitt -25%
Gewicht	88,8 kg	111,0 kg	66,6 kg
Clearance (ml/h)	12,43	15,90	8,96
Halbwertszeit (h)	527,0	412,0	731,3

Schließlich wurde eine Simulation zu Rituximab-Serumspiegeln bei dreiwöchiger R-CHOP Gabe durchgeführt. Dazu wurde das Modell der Standarddosierung von Rituximab in einem dosisdichten vierzehntägigen Zyklus verändert, indem die Zyklusdauer auf 21 Tage verlängert wurde (R-CHOP-21). In diesem Modell zeigte sich ein ausgeprägt langsamerer Anstieg der Rituximab-Talspiegel (Abbildung 4). Die höchsten Serumtalspiegel in dieser Simulation betrugen bei dreiwöchiger Rituximab-Gabe ungefähr 105 $\mu\text{g/ml}$ verglichen mit 140 $\mu\text{g/ml}$ beim zweiwöchigen Applikationsschema.

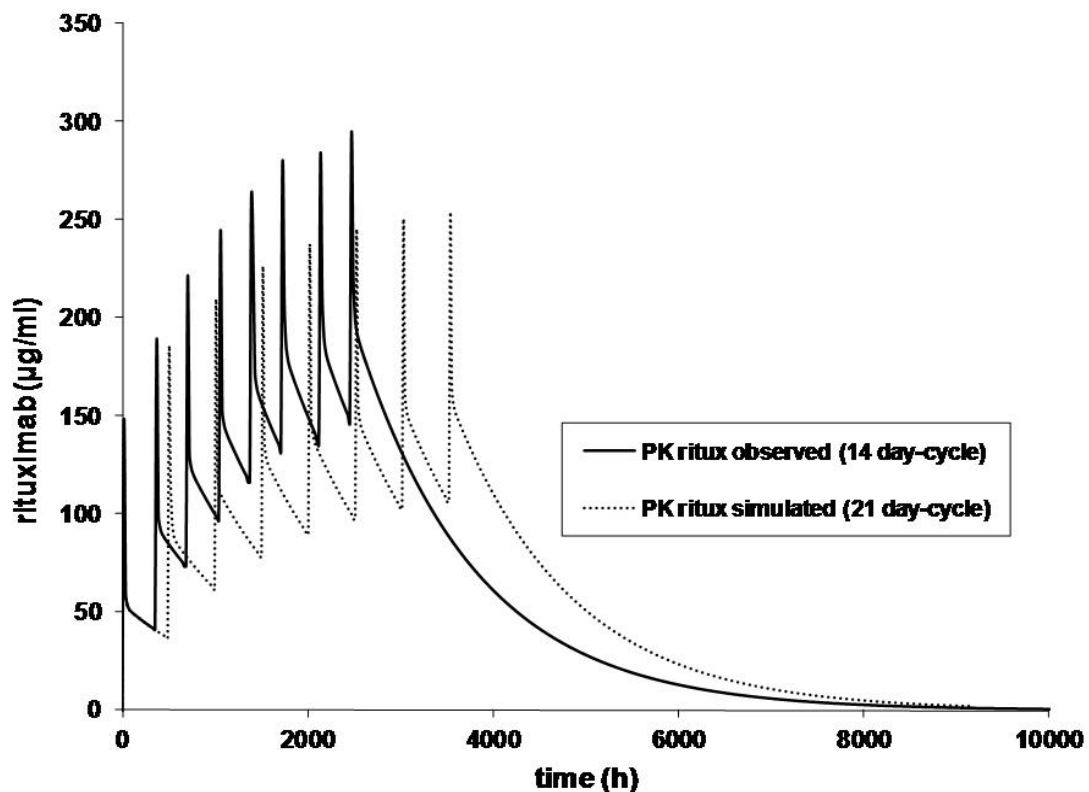


Abbildung 4: Simulation der Pharmakokinetik von R-CHOP-14 gegenüber R-CHOP-21. Pharmakokinetikmodell basierend auf den durchschnittlichen Werten der pharmakokinetischen Parameter K_{elm} , V_1 (l/kgLBMc), k_{12} , und k_{21} von 20 mit R-CHOP-14 behandelten Patienten analog des Zweikompartmentmodells. Das Modell für die 21-tägigen Intervalle wurde anschließend berechnet. K_{elm} bedeutet die Eliminationskonstante, V_1 (l/kgLBMc) steht für das zentrale Verteilungsvolumen, k_{12} steht für die Rate erster Ordnung (Konstante, welche den durchschnittlichen Transfer von Kompartiment 1 in Kompartiment 2 beschreibt) und k_{21} steht für die Rate erster Ordnung (durchschnittlicher Transfer von Kompartiment 2 in Kompartiment 1).

4.1.4 Korrelation mit den klinischen Ergebnissen

Die klinische Bedeutung des Geschlechts wird in Tabelle 7 gezeigt. In der RICOVER-60-Studie¹⁵ waren die Unterschiede zwischen Männern und Frauen im PFS nach R-CHOP beträchtlich größer als nach CHOP ohne Antikörpertherapie: die Prozentwerte, die das PFS der Frauen im Vergleich zu dem der Männer besser war, betrugen im CHOP-Arm nach 2, 3 bzw. 4 Jahren 1,0%, 5,1% und 0,9%. Die entsprechenden Zahlen für Patienten, die mit CHOP plus Rituximab behandelt wurden, betrugen im selben Zeitraum 5,7%, 7,7% und 7,6%. Dies zeigt, dass Frauen mit ihrer langsameren Elimination und längeren Serumhalbwertszeiten beträchtlich mehr von der Hinzunahme des CD20 Antikörpers profitieren.

Tabelle 7: Das progressionsfreie Überleben (PFS) weiblicher und männlicher Patienten aus der RICOVER-60-Studie, welche mit CHOP-14 mit und ohne Rituximab behandelt wurden

		CHOP-14 [95% - CI]	R-CHOP-14 [95% - CI]
2-Jahres PFS	weibliche Patienten (n=287/285)	62 [56 - 68]%	77 [72 - 82]%
	Unterschied	1,0 [0,7 - 1,3]%	5,7 [5,4 - 6,0]%
	männliche Patienten (n=325/325)	61 [56 - 67]%	71 [66 - 76]%
3-Jahres PFS	weibliche Patienten (n=287/285)	60 [53 - 66]%	75 [70 - 81]%
	Unterschied	5,1 [4,8 - 5,5]%	7,7 [7,4 - 8,0]%
	männliche Patienten (n=325/325)	55 [49 - 60]%	68 [62 - 73]%
4-Jahres PFS	weibliche Patienten (n=287/285)	50 [42 - 58]%	72 [65 - 78]%
	Unterschied	0,9 [0,3 - 1,5]%	7,6 [7,2 - 8,0]%
	männliche Patienten (n=325/325)	49 [42 - 56]%	64 [58 - 70]%

Das Gewicht hatte ebenfalls einen Einfluss auf das Therapieergebnis (Abbildung 5). Patienten aus der RICOVER-60-Studie, deren Körpergewicht sich innerhalb der unteren Quartile des entsprechenden Geschlechts befand (≤ 60 kg für Frauen bzw. ≤ 73 kg für die Männer), hatten nach der Hinzunahme von Rituximab eine signifikante Verbesserung im PFS (3-Jahres-PFS [mit 95% CI]: ohne Rituximab: 53% [44%;62%], mit Rituximab: 66% [58%; 74%]; $p=0,023$), wohingegen Rituximab das PFS von Patienten mit einem Körpergewicht im oberen Quartil des entsprechenden Geschlechts (>77 kg für Frauen und >89 kg für Männer nur marginal verbesserte (3-Jahres-PFS mit 95% CI []:ohne Rituximab: 67% [59%;75%], mit Rituximab: 70% [62%; 78%]; $p=0,284$).

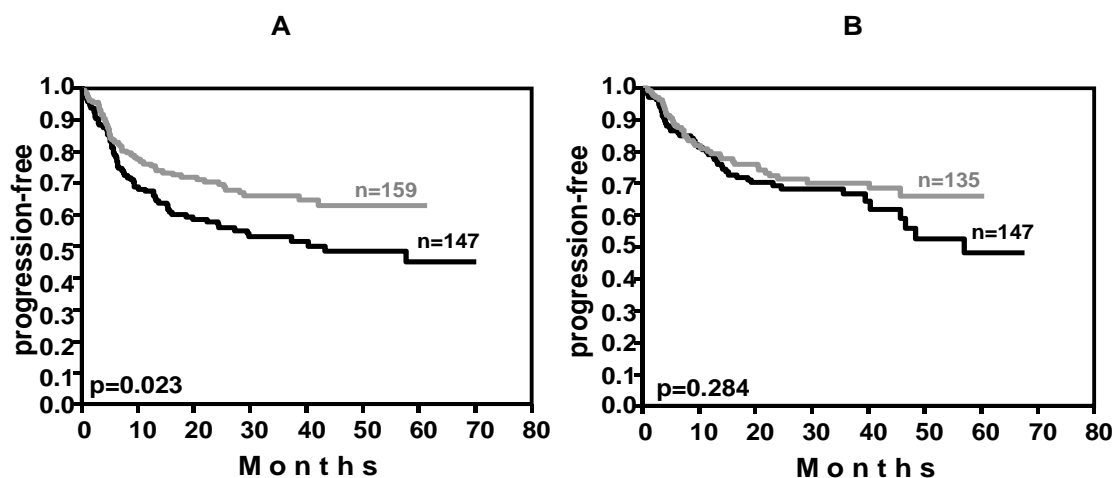


Abbildung 5: Einfluss des Gewichts auf das progressionsfreie Überleben in der RICOVER-60-Studie. Bei Patienten mit einem Körpergewicht innerhalb des unteren Quartiles des jeweiligen Geschlechts (≤ 60 kg beziehungsweise ≤ 73 kg) führte die Hinzunahme von 8 Zyklen Rituximab zu CHOP-14 zu einer signifikanten ($p=0,023$) Verbesserung des progressionsfreien Überlebens (**A**). Im Gegensatz hierzu, war bei Patienten mit einem Körpergewicht innerhalb der obereren Quartile des jeweiligen Geschlechts (>77 kg beziehungsweise >89 kg), welche eine schnellere Rituximab-Clearance hatten, diese Verbesserung lediglich gering ($p=0,284$; **B**). Schwarze Kurve: CHOP-14 ohne Rituximab; graue Kurve: CHOP-14 mit 8 Rituximab-Gaben alle zwei Wochen.

4.2 Ergebnisse der zusätzlichen pharmakokinetischen Untersuchungen nach Erstellung des Modells

4.2.1 Einfluss des Geschlechts auf das Therapieergebnis von älteren und jungen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen

Bei den 1222 älteren Patienten der RICOVER-60-Studie¹⁵ erwies sich der Benefit, den Frauen und Männern durch die Hinzunahme von Rituximab zur CHOP-Chemotherapie erzielten, als unterschiedlich. Wie Abbildung 6 zeigt, profitierten sowohl Frauen als auch Männer von der Hinzunahme von Rituximab. Die Verbesserung war allerdings bei den Frauen ausgeprägter. Lediglich mit CHOP-14 behandelt, zeigten die Frauen ein etwas besseres Therapieansprechen im Vergleich zu den Männern, obwohl ihr Risikoprofil vor der Therapie ungünstiger war. Nach der Hinzunahme von Rituximab jedoch waren die Unterschiede zwischen Männern und Frauen ausgeprägter. Rituximab verbesserte bei älteren Männern das 3-Jahres EFS um 13% (von 49% auf 62%), das 3-Jahres PFS um 13% (von 55% auf 68%) und das 3-Jahres OS um 10% (von 63% auf 73%). Die entsprechenden Zahlen für ältere Frauen betrugen für das EFS 17% (von 51% auf 68%), für das PFS 15% (von 60% auf 75%) und für das OS 7% (von 71% auf 78%). Eine multivariate Cox-Regressionsanalyse (Tabelle 8), angepasst an die IPI Risikofaktoren und an das Alter >70, ergab bei Patienten ohne Rituximab eine Hazard-Ratio für das männliche Geschlecht in Bezug auf EFS, PFS und OS 1,1, 1,1 bzw. 1,3. Signifikanz wurde nur für das OS erreicht mit einem $p=0,038$, während hingegen nach der Hinzunahme von Rituximab Signifikanz erreicht wurde, und zwar bezogen auf EFS (1,5, $p=0,004$), PFS (1,7, $p=0,001$) und OS (1,54, $p=0,01$).

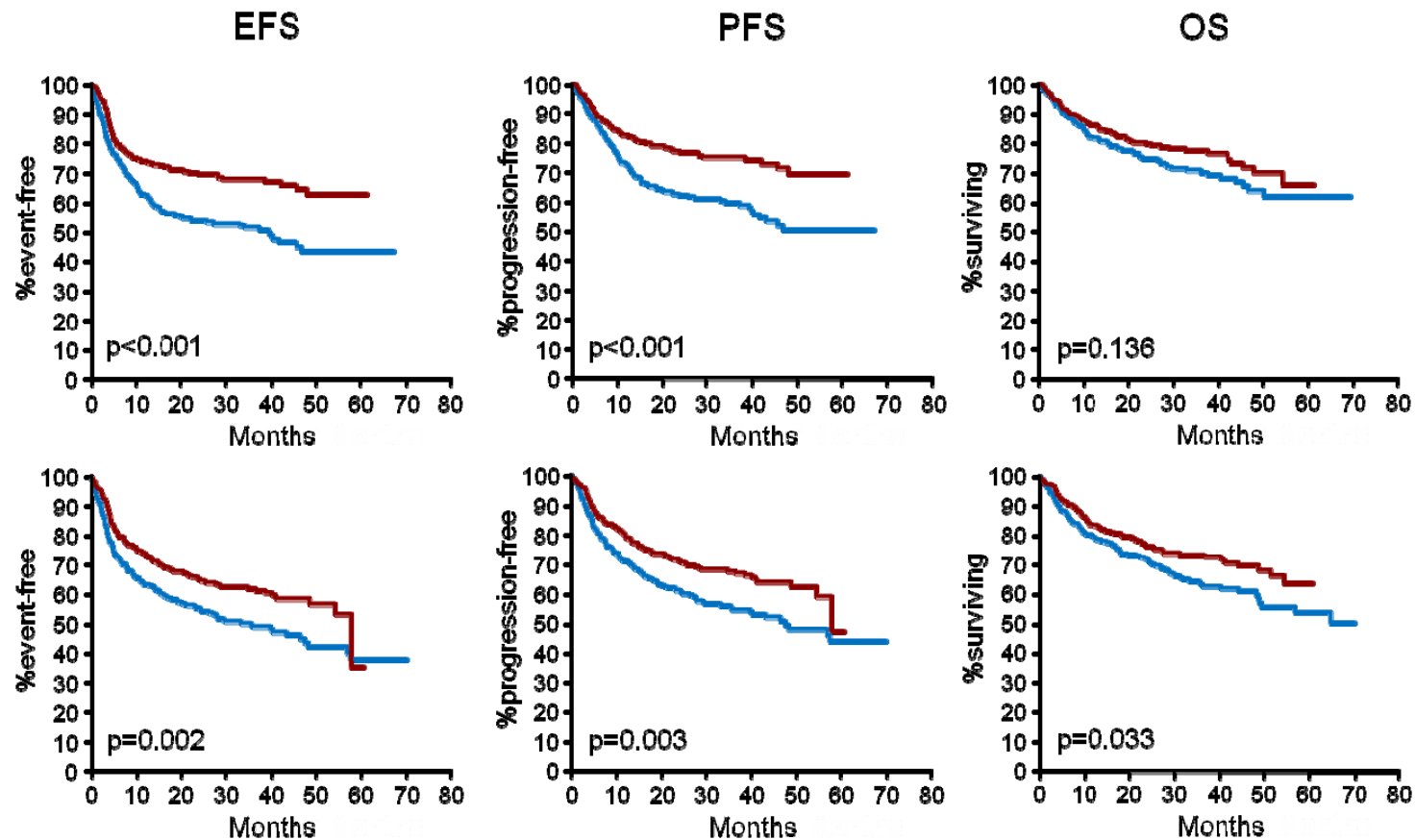


Abbildung 6: Therapieergebnisse der weiblichen und männlichen Patienten der RICOVER-60-Studie. Ältere Frauen (obere Grafiken) profitierten mehr von der Hinzunahme von Rituximab als ältere Männer (untere Grafiken). Obere Reihe: Frauen ohne Rituximab (n=287; blaue Kurven), Frauen mit Rituximab (n=285; rote Kurven). Untere Reihe: Männer ohne Rituximab (n=325; blaue Kurven), Männer mit Rituximab (n=325; rote Kurven).

Tabelle 8: Multivariate Analyse der Risikofaktoren in Bezug auf die Therapieergebnisse in der RICOVER-60-Studie (1222 ältere Patienten)

	ereignisfreies Überleben		progressionsfreies Überleben		Gesamtüberleben	
	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=612)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=610)	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=612)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=610)	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=612)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=610)
erhöhte LDH	1,5 [1,1 – 1,9] (p=0,004)	1,7 [1,2 – 2,3] (p=0,001)	1,6 [1,2 – 2,2] (p=0,001)	2,1 [1,4 – 2,9] (p<0,001)	1,8 [1,3 – 2,4] (p=0,001)	1,8 [1,3 – 2,7] (p<0,001)
ECOG Allgemein- zustand >1	1,8 [1,4 – 2,5] (p=0,001)	1,6 [1,1 – 2,3] (p=0,001)	1,7 [1,2 – 2,3] (p=0,001)	1,6 [1,4 – 2,9] (p=0,016)	1,8 [1,3 – 2,5] (p<0,001)	1,9 [1,1 – 2,5] (p=0,009)
Stadium III&IV	1,6 [1,2 – 2,1] (p=0,001)	1,5 [1,1 – 2,1] (p=0,008)	2,0 [1,5 – 2,7] (p<0,001)	1,5 [1,0 – 2,1] (p=0,031)	1,6 [1,2 – 2,3] (p=0,005)	1,6 [1,1 – 2,3] (p=0,024)
>1 extra- lymphatischer Befall	1,4 [1,1 – 1,9] (p=0,017)	1,0 [0,7 – 1,4] (p=0,958)	1,7 [1,2 – 2,2] (p=0,001)	1,1 [0,7 – 1,6] (p=0,672)	1,7 [1,2 – 2,4] (p=0,002)	1,1 [0,7 – 1,6] (p=0,817)
Alter >70 Jahre	1,2 [1,0 – 1,6] (p=0,1)	1,6 [1,2 – 2,1] (p=0,002)	1,4 [1,5 – 1,7] (p=0,02)	1,6 [1,2 – 2,2] (p=0,003)	1,6 [1,2 – 2,2] (p=0,001)	2,0 [1,5 – 2,9] (p<0,001)
Männer vs. Frauen	1,1 [0,8 – 1,3] (p=0,644)	1,5 [1,2 – 2,0] (p=0,004)	1,1 [0,9 – 1,5] (p=0,313)	1,7 [1,2 – 2,3] (p=0,001)	1,4 [1,0 – 1,8] (p=0,038)	1,5 [1,1 – 2,2] (p=0,01)

Das höhere Hazard-Risiko für ältere Männer nach R-CHOP im Vergleich zu CHOP wurde nicht nur in der RICOVER-60-Studie¹⁵ beobachtet, sondern auch in weiteren, unabhängigen Studien bei älteren Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen bestätigt (der Pegfilgrastimstudie²⁸, der NHL-B2-Studie¹⁰ und der RICOVER-noRT-Studie²⁷): das Hazard-Risiko in den Studien bzw. den Behandlungsarmen ohne Rituximab betrug für männliche Patienten zwischen 1,1 und 1,2, während es in den Studien bzw. den Behandlungsarmen mit Rituximab zwischen 1,5 und 3,5 lag (Tabelle 9). Das Gesamtrisiko für Männer bei allen 831 älteren Patienten, die in diesen Studien ohne Rituximab behandelt worden waren, betrug 1,2 (0,9 – 1,5) und dies war nicht signifikant (p=0,203), während es mit 1,6 (1,2 – 2,1) bei den 830 mit Rituximab behandelten Patienten hochsignifikant (p<0,001) war. Somit bestätigte dies die Ergebnisse aus der RICOVER-60-Studie. Insgesamt profitierten ältere Männer somit deutlich weniger von der Hinzunahme von Rituximab als Frauen.

Tabelle 9: Hazard-Ratio älterer männlicher vs. weiblicher Patienten für ein Event im progressionsfreien Überleben in den jeweiligen Studien und in den Behandlungsarmen mit bzw. ohne Rituximab

	Hazard Ratio [95% - CI]* ohne Rituximab	Hazard Ratio [95% - CI]* mit Rituximab
RICOVER-60-Studie³⁰ (n=1222)	1,1 [0,9 – 1,4] (n=612; p=0,348)	1,6 1,2 – 2,2] (n= 610; p=0,004)
Pegfilgrastim-Studie²⁸ (n=103)	1,2 [0,4 – 3,3] (n=47; p=0,783)	3,5 [1,0 – 12,8] (n=56; p=0,055)
NHL-B2-Studie (CHOP14)¹⁰ (n=172)	1,2 [0,8 – 1,9] (n=172; p=0,420)	-
RICOVER-noRT-Studie²⁷ (n=164)	-	1,5 [0,9 - 2,5] (n=164; p=0,196)
Alle Studien CHOP-14 (n=1661)	1,2 [0,9 – 1,5] (n=831; p=0,203)	1,6 [1,2 – 2,1] (n=830; p<0,001)

* relatives Risiko in den multivariaten Analysen angepasst an die IPI Risikofaktoren (erhöhte LDH, Stadium III/IV und >1 extralymphatischer Befall).

Im Gegensatz hierzu profitierten in der MInT-Studie³¹ junge männliche Patienten von der Hinzunahme von Rituximab ebenso sehr wie die Frauen (Abbildung 7): Rituximab verbesserte das 3-Jahres EFS der Männer um 23% (von 58% auf 81%), das 3-Jahres PFS um 18% (von 70% auf 88%) und das 3-Jahres OS um 10% (von 83% auf 93%). Die entsprechenden Verbesserungen für junge Frauen waren im EFS 15% (von 64% auf 79%), im PFS 14% (von 71% auf 85%) und im OS 7% (von 87% auf 94%). Eine multivariate Analyse der jungen Patienten mit günstiger Prognose, die innerhalb der MInT-Studie behandelt worden waren (Tabelle 10), ergab für männliche Patienten ein leicht erhöhtes Hazard-Risiko, wenn sie im CHOP (und CHOP-ähnlichem) Arm ohne Rituximab behandelt worden waren. Dieses Hazard-Risiko fiel bei Männern im EFS und im OS leicht und blieb im PFS gleich, wenn sie mit CHOP bzw. CHOP-ähnlicher Chemotherapie mit Rituximab behandelt wurden (Tabelle 10).

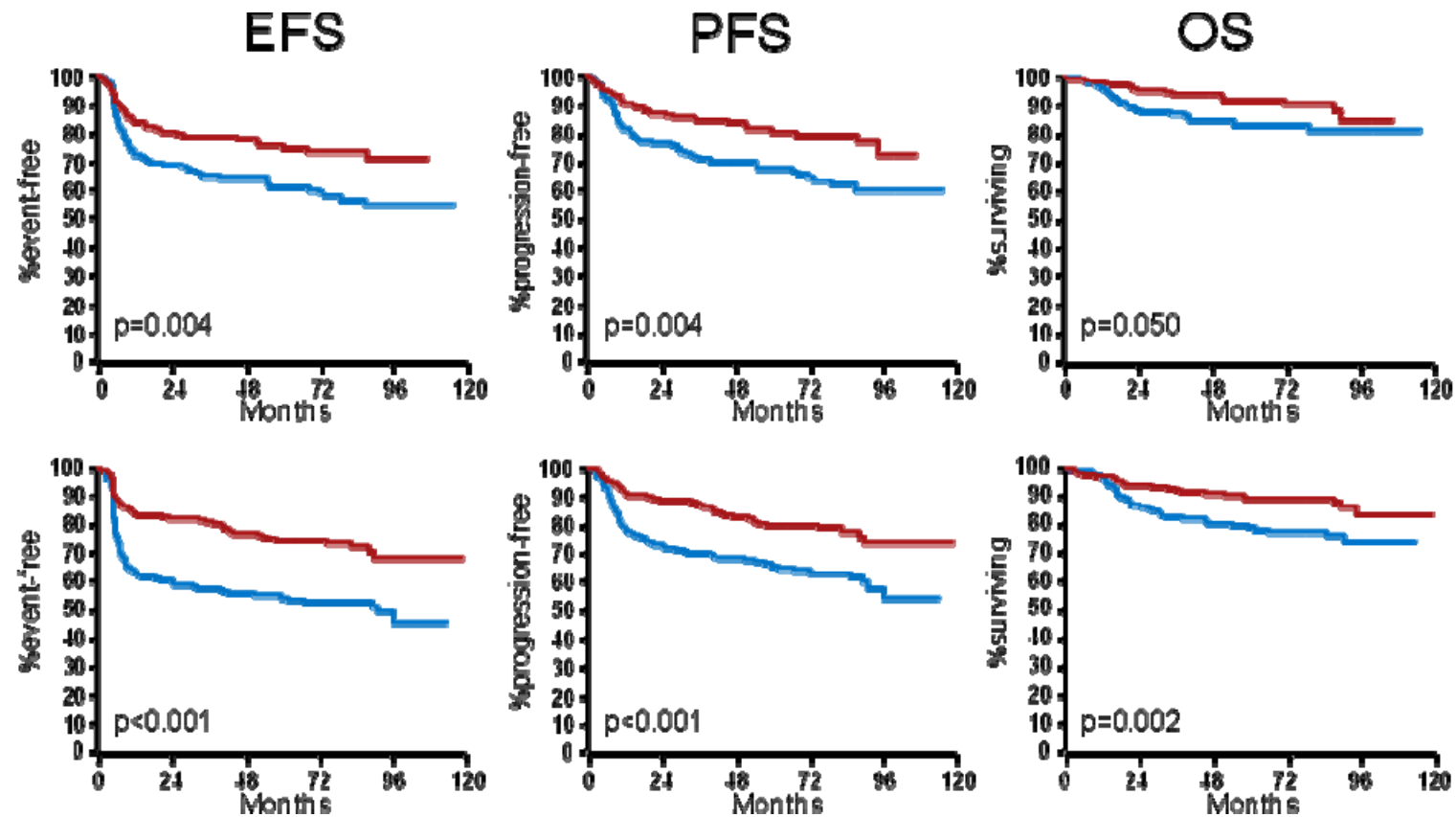


Abbildung 7: Therapieergebnisse der weiblichen und männlichen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen in der MInT-Studie. Junge männliche Patienten mit guter Prognose (aaIPI=0,1) profitierten von der Hinzunahme von Rituximab im gleichen Maße wie junge weibliche Patienten mit guter Prognose. Obere Reihe: Frauen ohne Rituximab (n=189; blaue Kurven), Frauen mit Rituximab (n=156; rote Kurven). Untere Reihe: Männer ohne Rituximab (n=221; blaue Kurven); Männer mit Rituximab (n=257; rote Kurven). EFS = ereignisfreies Überleben; PFS = progressionsfreies Überleben; OS = Gesamtüberleben. Für die multivariate Analyse: siehe Tabelle 8.

Tabelle 10: Multivariate Analyse der Risikofaktoren in Bezug auf die Therapieergebnisse in der MInT-Studie (823 junge Patienten mit guter Prognose [aaIPI=0,1])*

	ereignisfreies Überleben		progressionsfreies Überleben		Gesamtüberleben	
	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=410)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=413)	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=410)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=413)	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=410)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=413)
erhöhte LDH	1,9 [1,3 – 2,8] (p<0,001)	1,3 [0,8 – 2,1] (p=0,342)	1,8 [1,2 – 2,7] (p=0,005)	1,7 [1,0 – 3,1] (p=0,073)	2,1 [1,2 – 3,5] (p=0,006)	1,8 [0,8 – 3,7] (p=0,151)
Stadium III&IV	1,7 [1,1 – 2,4] (p=0,008)	1,9 [1,2 – 3,1] (p=0,007)	1,6 [1,1 – 2,5] (p=0,027)	2,3 [1,3 – 4,1] (p=0,004)	0,9 [0,5 – 1,8] (p=0,852)	1,8 [0,8 – 3,9] (p=0,162)
>1 extra-lymphatischer Befall	1,5 [0,9 – 2,5] (p=0,102)	0,8 [0,4 – 1,7] (p=0,547)	1,3 [0,7 – 2,3] (p=0,346)	0,6 [0,2 – 1,6] (p=0,302)	2,5 [1,2 – 5,2] (p=0,014)	0,5 [0,1 – 2,2] (p=0,391)
Männer vs. Frauen	1,3 [1,0 – 1,8] (p=0,092)	1,1 [0,7 – 1,7] (p=0,660)	1,1 [0,8 – 1,5] (p=0,632)	1,1 [0,7 – 1,7] (p=0,799)	1,3 [0,8 – 2,1] (p=0,244)	1,2 [0,6 – 2,4] (p=0,535)

* nicht adjustiert für den Allgemeinzustand (ECOG), weil nur 6 der 823 Patienten einen ECOG >1 hatten

Ein ähnliches Muster wurde bei den 262 jungen Patienten mit ungünstiger Prognose (aaIPI=2 oder 3) beobachtet, welche in der MegaCHOEP-Studie³³ behandelt worden waren (Tab. 11): Das Hazard-Risiko für Männer lag bei 1,3 (0,8 – 1,9; p=0,258) für das EFS, bei 1,2 (0,7 – 1,8; p=0,521) für das PFS bzw. bei 1,0 (0,6 – 1,6; p=0,898) für das OS und war damit vergleichbar mit den Hazard-Raten der Population junger Niedrigrisiko-Patienten in der MInT-Studie.

Tabelle 11: Multivariate Analyse der Risikofaktoren in Bezug auf die Therapieergebnisse in der Mega-CHOEP-Studie (262 junge Patienten mit schlechter Prognose [aaIPI=2,3])

	ereignisfreies Überleben		progressionsfreies Überleben		Gesamtüberleben	
	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=0)	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=262)	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=0)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=262)	Hazard Ratio [95% - CI] ohne Rituximab (n=0)	Hazard Ratio [95% - CI] mit Rituximab (n=262)
erhöhte LDH	-	1,1 [0,4 – 3,8] (p=0,818)	-	1,0 [0,3 – 3,2] (p=0,957)	-	1,2 [0,3 – 5,3] (p=0,778)
ECOG Allgemein- zustand >1	-	1,6 [1,0 – 2,5] (p=0,034)	-	1,8 [1,1 – 2,9] (p=0,019)	-	1,8 [1,0 – 3,2] (p=0,040)
Stadium III&IV	-	2,8 [0,7 – 11,7] (p=0,162)	-	2,4 [0,6 – 10,0] (p=0,245)	-	3,3 [0,4 – 24,6] (p=0,250)
>1 extra- lymphatischer Befall	-	1,2 [0,8 – 1,8] (p=0,357)	-	1,2 [0,8 – 1,9] (p=0,413)	-	1,0 [0,6 – 1,8] (p=0,953)
Männer vs. Frauen	-	1,3 [0,8 – 2,0] (p=0,258)	-	1,2 [0,7 – 1,9] (p=0,521)	-	1,0 [0,6 – 1,7] (p=0,900)

4.2.2 Korrelation von Therapieergebnis, Alter und Geschlecht mit der Pharmakokinetik von Rituximab

Die Unterschiede im Therapieergebnis von Männern und Frauen mit und ohne Rituximab können nicht durch Unterschiede in Bezug auf die relative Dosen oder die Dosisintensitäten der myelosuppressiven Medikamente erklärt werden. Diese waren in den Armen mit und ohne Rituximab und ebenso für Männer und Frauen identisch: die relative Dosis für Cyclophosphamid betrug für beide Geschlechter 98%, für Doxorubicin betrug sie 98% für Frauen und 96% für Männer (Abbildung 8).

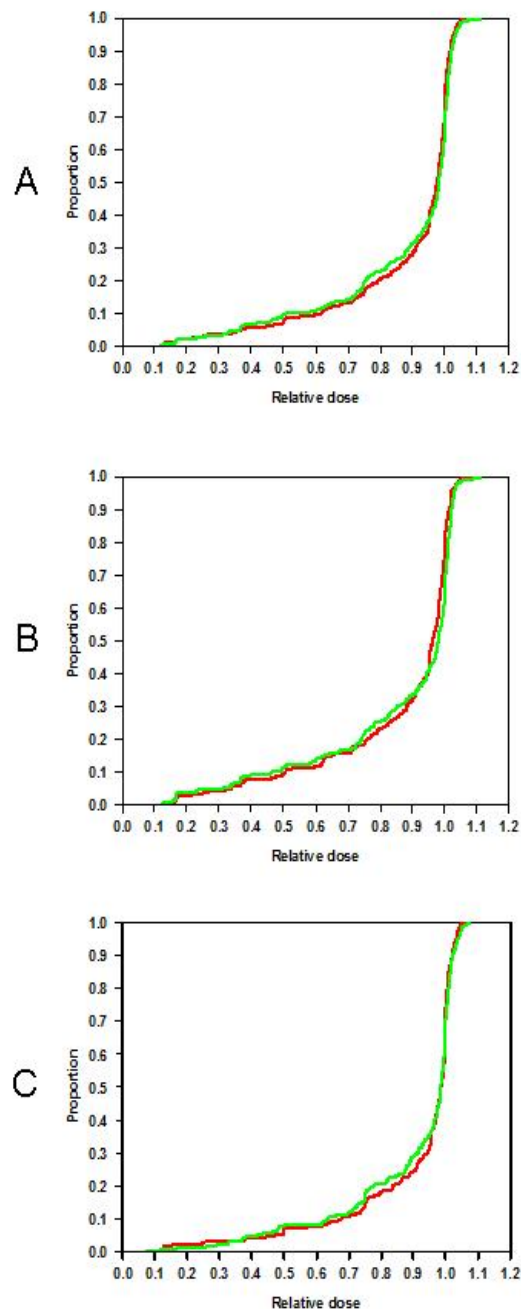


Abbildung 8: Relative Dosis von Cyclophosphamid in der RICOVER-60-Studie. **A** alle Patienten; **B** Patienten ohne Rituximab; **C** mit Rituximab. Rote Kurven: männliche Patienten; grüne Kurven: weibliche Patienten. Es bestand kein Unterschied zwischen Männern und Frauen in Bezug auf die relative Cyclophosphamiddosis. Das gleiche gilt für Doxorubicin (Daten nicht gezeigt). Daher können die Unterschiede im Therapieergebnis zwischen Männern und Frauen, die Rituximab erhalten haben, nicht durch Unterschiede in der Chemotherapie erklärt werden.

Ältere Frauen hatten häufiger eine Leukozytopenie vom Grad 4 als Männer (ohne Rituximab: 39,0% vs. 25,2%, $p < 0,001$; mit Rituximab: 43,7% vs. 22,5%, $p < 0,001$), aber sie hatten seltener Infektionen vom Grad 3 und 4 (ohne Rituximab: 9,0% vs. 14,5%, $p = 0,036$; mit

Rituximab: 9,4% vs. 8,4%, $p=0,056$). Bezogen auf Fieber gab es zwischen älteren Frauen und älteren Männern keinen Unterschied (ohne Rituximab: 13,4% vs. 16,5%, $p=0,325$; mit Rituximab: 10,5% vs. 13,5%, $p=0,185$). Ähnlich wie bei den relativen Chemotherapiedosen gab es in Bezug auf die erhaltenen Rituximab-Dosen keine Unterschiede zwischen älteren Frauen und älteren Männern (Abbildung 9).

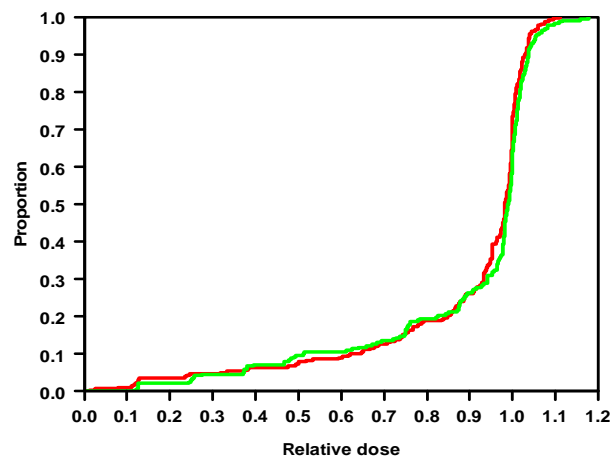


Abbildung 9: Relative Rituximab-Dosis in der RICOVER-60-Studie. Es gab keine Unterschiede zwischen älteren Männern (rote Kurve) und Frauen (grüne Kurve) in Bezug auf die relative Rituximab-Dosis. Daher kann geschlossen werden, dass die Unterschiede im Therapieergebnis zwischen älteren weiblichen und männlichen Patienten mit den Unterschieden in der Rituximabclearance (und infolgedessen mit den Rituximab-Serumspiegeln und Expositionszeiten) assoziiert sind, aber nicht mit Unterschieden in der erhaltenen Rituximab-Dosis.

Daher war es notwendig, nach anderen Faktoren zu suchen, die diese unterschiedlichen Therapieergebnisse von Männern und Frauen erklären könnten. Wie in Abbildung 10A zu sehen ist, bestand bei der Analyse aller 82 Pharmakokinetik-Patienten keine Korrelation zwischen Alter und Rituximab-Clearance ($-0,1$; $p=0,320$). Die Analyse zu Alter und Geschlecht ergab eine nicht-signifikante positive Korrelation bei 44 männlichen Patienten mit steigendem Alter ($+0,2$; $p=0,168$; Abbildung 10B), aber es gab eine signifikante negative Korrelation von Alter und Rituximab-Clearance bei Frauen ($-0,5$; $p=0,004$; Abbildung 10C). Die Analyse ergab eine durchschnittliche Rituximab-Clearance von 8,47 ml/h bei älteren Frauen. Dies war im Vergleich sowohl zu älteren Männern (10,59 ml/h; $p=0,005$) als auch zu jüngeren Frauen (10,38 ml/h; $p=0,004$) und jüngeren Männern (9,89 ml/h; $p=0,015$; Abbildung 10D) signifikant langsamer.

4.2.3 Einfluss von Tumormasse und IPI auf die Rituximab-Clearance

Im Gegensatz zum Alter gab es zwischen niedriger und hoher Tumormasse keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Rituximab-Clearance (Abbildung 10E). Im Gegensatz zu dem, was man erwartet hätte und was auch bereits 2012 von Jäger et al.²⁹ bei follikulären Lymphomen berichtet worden war, war die durchschnittliche Rituximab-Clearance bei Patienten mit Stadium I/II schneller als bei Patienten mit Stadium III/IV (10,23 ml/h vs. 9,50 ml/h; $p=0,070$), aber dies kann durch die zahlreichen Frauen mit Stadium III/IV in dieser Auswertung erklärt werden. Das gleiche gilt für den Vergleich von Patienten mit niedrigem und intermediär-niedrigem Risiko nach dem IPI mit Patienten mit intermediär-hohem und hohem Risiko (Abbildung 10F). Die letztere Auswertung war auf ältere Patienten beschränkt, da alle jüngeren Patienten, von denen Pharmakokinetikdaten verfügbar waren, zur Gruppe der Patienten mit günstiger Prognose gehörten (aaIPI=0,1).

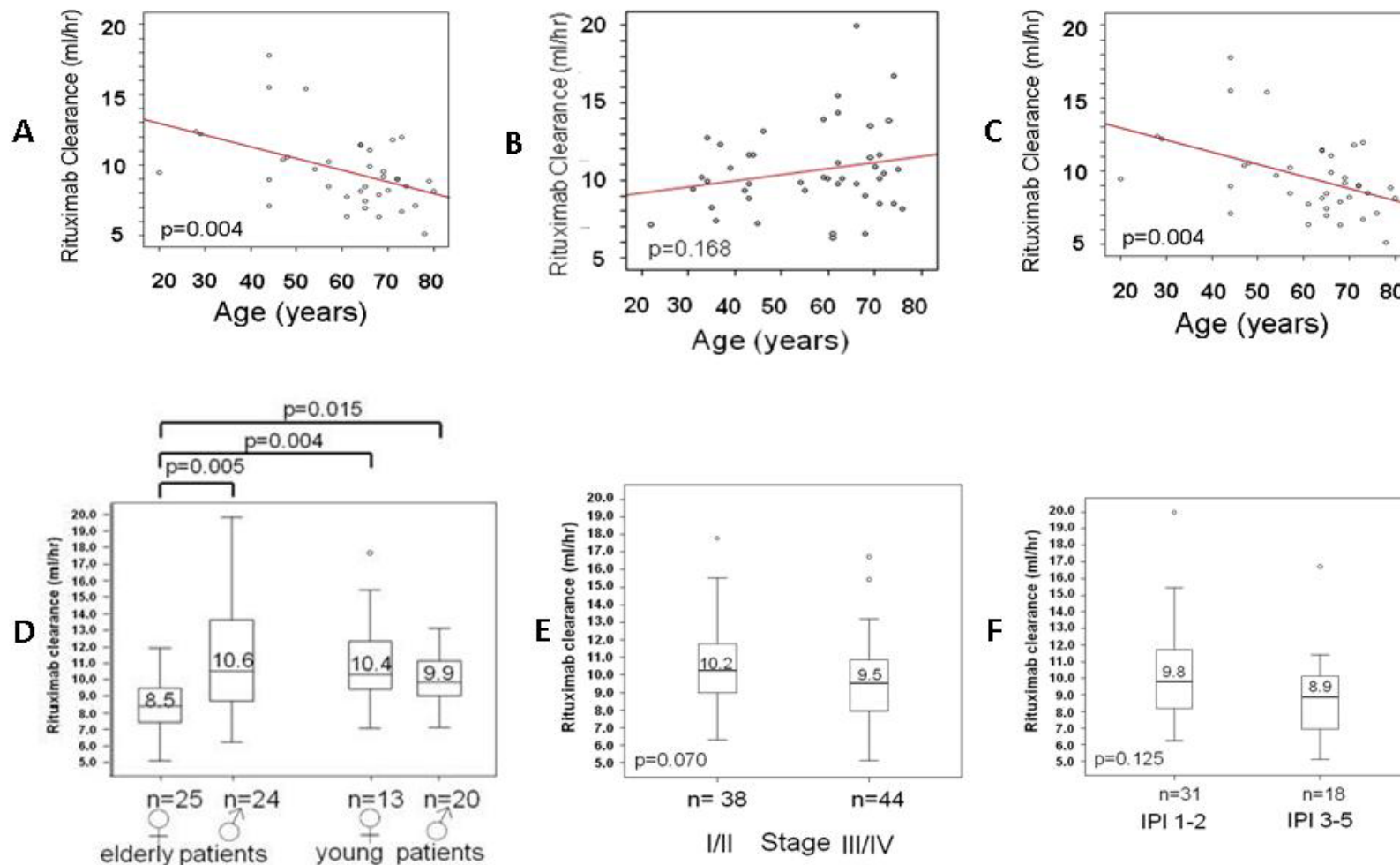


Abbildung 10: Auswirkung von Alter, Geschlecht, Tumormasse und IPI auf die Rituximab-Clearance. In der Analyse aller Patienten wurde keine Korrelation zwischen der Rituximab-Clearance und dem Alter gefunden (A). Bei der getrennten Analyse von Frauen und Männern stieg mit steigendem Alter die Clearance bei Männern leicht an (nicht signifikant) B und bei Frauen nahm sie signifikant ab (C). Es gab in der Rituximab-Clearance keine Unterschiede zwischen jungen Frauen und Männern, aber signifikante Unterschiede zwischen älteren Frauen und älteren Männern, älteren und jungen Frauen und älteren Frauen und jungen Männern. (D). Keine signifikanten Unterschiede in der Rituximab-Clearance gab es zwischen Patienten mit niedriger Tumormasse (Stadium I/II) und hoher Tumormasse (Stadium III/IV) und zwischen (älteren) Patienten mit guter Prognose und Patienten mit ungünstiger Prognose (F); in der letztgenannten Analyse wurden nur ältere Patienten ausgewertet, weil keine Pharmaokinetikdaten von jungen Patienten mit ungünstiger Prognose vorlagen.

5 Diskussion und Ausblick

5.1 Diskussion

Während vermutet wird, dass Rituximab mithilfe eines unspezifischen Katabolisierungsprozesses in der Leber und anderen Organen abgebaut wird^{19;42-44}, weiß man bisher wenig über die Mechanismen der Metabolisierung von Rituximab und seine Elimination^{45;46}. Um das spärliche Wissen über die Rituximab-Pharmakokinetik zu erweitern, wurde zunächst in einer ersten Untersuchung mithilfe eines populationsbasierten Modells die Verfügbarkeit von Rituximab und der Einfluss von Kovariaten (dies waren Geschlecht, Alter und Gewicht) auf die Pharmakokinetik in einer offenen prospektiven Studie bei 20 älteren Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen untersucht. Informationen zur populationsbasierten Pharmakokinetik von Rituximab gibt es nur von wenigen Studien, die alle in verschiedenen Patientenkollektiven durchgeführt worden waren: zum einen die 2005 publizierte Studie von Ng et al.²⁴ bei 102 Patienten mit rheumatoider Arthritis, die 2010 publizierte Studie von Tran et al.³⁴ mit 8 Patienten, welche fast alle ein indolentes Lymphom hatten und die 2009 publizierte Studie von Blasco et al.¹⁶ mit 10 Patienten, überwiegend mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen. Somit ist die vorliegende Arbeit die erste Untersuchung zur Pharmakokinetik von Rituximab in einem dosisdichten zweiwöchigen R-CHOP-14 Schema bei Patienten mit aggressivem CD20⁺ B-Zell-Lymphom. Der Vergleich der Ergebnisse zur Pharmakokinetik von Rituximab aus unserer Studie mit den Ergebnissen der zuvor genannten Studien wird in Tabelle 12 gezeigt.

Tabelle 12: Vergleich der pharmakokinetischen Parameter von Rituximab in publizierten Studien mit einem populationsbasierten Ansatz.

Referenz	Population	Alter Durchschnitt (Intervall)	Geschlecht Männer/ Frauen n/n	Clearance ml/h (Intervall)	Clarence Männer/Frauen ml/h (Intervall)	Vd _{ss} l (Intervall)	V _c l (Intervall)
Ng et al. ²⁴	Rheumatoide Arthritis	55 (26 - 76)	22/85	10,7 (3,4% CV)	n.g.	n.g.	3,0 (2,1% CV)
Blasco et al. ³³	B-Zell- Lymphome	51,5 (33 - 74)	7/3	4,9 (73,9% CV)	n.g.	12 (12,2% CV)	1,8 (12,9% CV)
Regazzi, et al. ⁴⁰	Follikuläres Lymphom	n.g.	22 gesamt	5,1 (3,8 – 8,1)	n.g.	4,5 (2,6 – 5,3)	1,8 (1,6 – 2,1)
diese Studie	aggressive CD20+ B-Zell- Lymphome	69 (60 - 79)	9/11	9,4 (8,1 – 10,8)	11,90 (9,74 - 14,06)/ 7,77 (6,68 - 8,86)	9,6 (8,4 – 10,8)	3,9 (3,5 – 4,3)

CV = Variationskoeffizient; n.g. = nicht genannt

Basierend auf einer populations-pharmakokinetischen Analyse mittels NONMEM VI wurde in unseren Auswertungen ein V_c von 3,9 l und eine Clearance von 9,4 ml/h bestimmt. Die vorliegenden pharmakokinetischen Parameter von Rituximab stehen im Einklang mit vorherigen Studien von Ng et al., Blasco et al. und Regazzi et al., obwohl verschiedene Unterprogramme (Subroutinen) für die Auswertung der Population verwendet wurden^{16;24;35}. Nur in unserer Studie wurden geschlechtsspezifische Unterschiede in der Rituximab-Pharmakokinetik untersucht (Tabelle 12).

Die Auswertung des endgültigen Modells wurde mithilfe einer Bootstrap Analyse (500 Wiederholungen) durchgeführt. Aus der ursprünglichen Datei von Rohdaten der Gesamtpopulation (Konzentrationen, Zeiten, Kovariaten der Patienten), die auch für die Modellentwicklung zur Verfügung standen, wurden zufällig und wiederholt eine Anzahl n Patienten mit den dazugehörigen Daten ausgewählt. Dieser Vorgang wurde 500mal wiederholt, um eine Vergleichbarkeit zwischen „originalen“ NONMEM- und Bootstrap-Schätzwerten zu erhalten^{48;49}. Aufgrund der hohen Stabilität des Modells waren die durchschnittlichen Parameter der Population, die durch die Bootstrap Analyse erhalten worden waren, nahezu identisch mit den Schätzparametern, welche durch einen einzelnen Durchgang des Originaldatensatzes erhalten worden waren (Tabelle 5).

Beim aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphom ist eine rasche, definitive Tumorkontrolle entscheidend, da Patienten mit refraktärer Erkrankung, insbesondere nach Vorbehandlung mit Rituximab⁵⁰ eine sehr schlechte Prognose haben⁵¹. Erste Studien zur Pharmakokinetik von Rituximab ließen darauf schließen, dass bei indolenten Lymphomen hohe Rituximab-Plasmaspiegel mit einem günstigen Therapieansprechen assoziiert sind¹⁵. In der Studie von Piro et al.⁵² bei follikulären Lymphomen waren ebenfalls höhere kumulative Dosen und eine längere Rituximab-Expositionszeit mit einer besseren Wirksamkeit assoziiert. In einer weiteren pharmakokinetischen Studie³⁶ bei Patienten mit rezidierten indolenten Lymphomen und geringer Tumormasse, welche zur Konsolidierung nach der Chemotherapie vier wöchentliche Gaben Rituximab in einer Dosierung von 375 mg/m² erhalten hatten, stieg die durchschnittliche Serumkonzentration von Rituximab jeweils vor der Infusion von 80,3 µg/ml (Intervall: 62,8 – 100,3 µg/ml) nach der ersten Gabe auf 198,1 µg/ml (Intervall: 172,0 – 267,6 µg/ml) nach der vierten Gabe an.

In der von uns durchgeführten Studie erhielten alle Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen 8 Gaben Rituximab in einem dosisdichten Schema, und hierunter stiegen die durchschnittlichen Serumtalspiegel nur langsam an, und auch nach allen acht Gaben

wurde kein Plateau erreicht. Interessanterweise fanden wir bei der gesamten Studienpopulation eine Rituximab-Halbwertszeit von 27 Tagen, und bei 9 von 10 auswertbaren Patienten war noch 9 Monate nach der letzten Gabe Rituximab im Serum nachweisbar. In der Studie von Berinstein et al.¹⁴ war die geschätzte Halbwertszeit von Rituximab deutlich geringer, aber auch in dieser Studie stieg sie von 3 Tagen nach dem ersten Zyklus auf 8,5 Tage nach dem vierten Zyklus. Ebenfalls waren dabei wie in unserer Studie Rituximab-Spiegel auch noch sechs Monate nach der letzten Gabe nachweisbar. Es wurde gemutmaßt, dass diese schwer erklärbare verlängerte Halbwertszeit und lange Persistenz von messbaren Rituximab-Spiegeln im Serum auf der therapieinduzierten Reduktion der Tumormasse und der Sättigung der CD20 Bindungsstellen beruhen, da Rituximab-Serumspiegel sowohl mit dem Vorhandensein von Tumorbulk und der Anzahl der zirkulierenden B-Zellen zu Therapiebeginn invers korreliert sind. Andere Studien von Maloney et al.¹⁷, Piro et al.⁵² und Berinstein et al.¹⁸ haben ähnliche Ergebnisse gezeigt.

Unsere Beobachtung, dass die Rituximab-Serumspiegel unabhängig von der Tumormasse sind, stehen im Gleichklang mit den Ergebnissen von Mangel et al.³⁷ bei Patienten mit Mantelzelllymphomen, bei dessen Studie der Expositionsgrad von Rituximab bei Patienten mit minimalem Erkrankungsbild und Patienten mit aktiver Erkrankung ähnlich war.

Die Pharmakokinetik eines monoklonalen Antikörpers hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, so z.B. von der Dosis und der Häufigkeit der Gaben, der Metabolisierung des Antikörpers, seiner Verteilung im Körper und seiner spezifischen und unspezifischen Clearance. Manche dieser Faktoren, wie z.B. die spezifische Clearance durch Bindung an die CD20⁺ Zellen könnte durch das Vorhandensein einer großen Tumormasse beeinflusst sein. Im Gegensatz dazu könnte die unspezifische Clearance, wie z.B. die, welche durch die Bindung an die Fc-Rezeptoren hervorgerufen wird, von anderen Faktoren, wie z.B. der Bindungsaffinität von Rituximab an die verschiedenen Fc-Rezeptor Genotypen, abhängen^{55;56}.

Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit denen der 2009 publizierten Studie von Blasco et al.¹⁶, in welcher aktuelle Konzentrationen aus dem ersten Behandlungszyklus benutzt wurden, um die Konzentrationen späterer Zyklen zu simulieren. In jener Studie wurden die simulierten Werte mit den gemessenen Werten verglichen, und sie unterschieden sich nicht. Blasco et al. schlossen daher, dass sich das pharmakokinetische Verhalten von Rituximab trotz therapieinduzierter Reduktion der Tumormasse nicht verändert. In ihrer Studie betrug die bestimmte Rituximab-Halbwertszeit 21 Tage.

Der Einfluss des Geschlechts auf das Therapieergebnis von Patienten mit aggressiven CD20

positiven B-Zell-Lymphomen ist bisher kontrovers diskutiert worden⁵⁷⁻⁶⁰. Ergebnisse aus nicht-randomisierten Vergleichen legen den Verdacht nahe, dass der negative Einfluss des männlichen Geschlechts bei Patienten unter Immunochemotherapie mit R-CHOP ausgeprägter ist als bei Patienten, die nur eine Chemotherapie erhalten^{61;62}. Klinisch relevante Unterschiede in der Pharmakokinetik von Antikörpern zwischen den Geschlechtern sind bisher nur selten beschrieben worden. In einer von Jilma-Stohlawetz et al.²² 2005 publizierten Studie zur Pharmakokinetik von anti-D Immunglobulin (144 kD), welches in Bezug auf die chemischen Eigenschaften und das molekulare Gewicht mit Rituximab vergleichbar ist, wurde bei jungen Freiwilligen der Unterschied zwischen den Geschlechtern untersucht. Frauen hatten im Vergleich zu Männern ein höheres C_{max} von anti-D Ig und ein geringeres Verteilungsvolumen, welches sich am ehesten in einer langsameren Clearance von anti-D Ig bei Frauen widerspiegelt. In einer weiteren Untersuchung von Vachharajani et al.³⁸ zu Einflüssen von Alter und Geschlecht auf die Pharmakokinetik von Lanoteplase, einem Plasminogenaktivator, wurden geschlechtsabhängige Einflüsse auf die Gesamtclearance beobachtet. Während das bei Frauen im Vergleich zu Männern geringere Herzzeitvolumen und geringere Leberdurchblutung zu diesem Phänomen beizutragen scheinen, könnten laut Gandhi et al.²¹ Unterschiede zwischen Männern und Frauen in der enzymatischen Leberaktivität die Hauptrolle bei der pharmakokinetischen Variabilität der Geschlechter spielen.

Eines der wichtigsten Ergebnisse unserer Studie ist, dass bei älteren Patienten die Clearance stark vom Geschlecht des Patienten und, bei Anpassung der Dosis an die Körperoberfläche, von dessen Gewicht beeinflusst ist. Die Clearance war bei älteren Frauen in unserer Analyse signifikant langsamer und bei älteren männlichen Patienten 1,5mal schneller (8,21 vs. 12,68 ml/h). Die Clearance war mit der Halbwertszeit von Rituximab invers korreliert, mit einer signifikanten Verminderung bei älteren Männern ($t_{1/2\beta} = 4,7$ Tage) im Vergleich zu Frauen ($t_{1/2\beta} = 30,7$ Tage). Diese Ergebnisse ähneln denen von Ng et al.²⁴, die einen populationsbasierten Ansatz zur Rituximab-Pharmakokinetik bei Patienten mit rheumatoider Arthritis gewählt hatten. Sie fanden ebenfalls eine schnellere Clearance (39%) bei Männern im Vergleich zu Frauen, zeigten aber auch, dass die Körperoberfläche der Patienten von Bedeutung ist, was in unserer Analyse nicht der Fall war. Dieser Unterschied kann jedoch dadurch erklärt werden, dass Patienten in unserer Studie eine Rituximab-Dosis erhielten, welche anhand der Körperoberfläche berechnet worden war, während in der Studie von Ng et al.²⁴ eine von der Körperoberfläche unabhängige, fixe Dosis von 1000 mg appliziert worden war.

Die multivariaten Auswertungen der RICOVER-60-Studie³⁰ zeigen, dass das männliche Geschlecht unter einer reinen CHOP-Therapie ohne Rituximab mit einem leicht, aber nicht signifikant erhöhtem Risiko hinsichtlich des EFS, PFS und OS assoziiert ist. Aber das männliche Geschlecht wird zu einem signifikanten Risikofaktor für EFS und PFS, wenn Rituximab zur CHOP Therapie hinzukommt, was darauf beruht, dass Rituximab bei älteren Frauen und Männern unterschiedlich stark die Therapieergebnisse verbessert. Diese Beobachtung in der RICOVER-60-Studie wurde durch andere unabhängige prospektive Studien der DSHNHL (Pegfilgrastim-Studie²⁸, NHL-B2-Studie¹⁰ und RICOVER-noRTh-Studie²⁷), in denen ältere Patienten CHOP mit und ohne Rituximab erhalten hatten, bestätigt. Diese sind in Tabelle 9 aufgelistet. Die Annahme, dass geschlechtsspezifische Unterschiede in der Rituximab-Pharmakokinetik einen Einfluss auf die Therapieergebnisse in Kombination mit anderen Therapieregimen als CHOP-14 haben könnten, wird von einer 2011 publizierten Studie von Gisselbrecht et al.³⁹ gestützt. Bei Patienten mit rezidierten aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen profitierten jüngere Frauen (im Alter von 18-65 Jahren) von einer Rituximab-Erhaltungstherapie, nicht aber Männer. Dass dieser Unterschied im EFS und PFS sich in unserer Studie nicht in einen signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben übertrug, ist möglicherweise der Tatsache geschuldet, dass Männer, welche in der RICOVER-60-Studie primär progredient waren oder ein Rezidiv nach R-CHOP erlitten, häufiger als Frauen mit einer Hoch-Dosis-Chemotherapie inklusive anschließender autologer Stammzelltransplantation behandelt wurden (Manuskript in Vorbereitung). Die Tatsache, dass die signifikant schnellere Rituximab-Clearance bei älteren Männern mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen eine im Vergleich zu Frauen geringere Verbesserung der Therapieergebnisse in der RICOVER-60-Studie³⁰ (Abbildung 6 und Tabelle 7) ergab, lässt darauf schließen, dass die Rituximab-Dosierung, welche bei Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen 375 mg/m² beträgt, für ältere Männer suboptimal ist.

Die niedrigeren Rituximab-Serumspiegel und/oder die kürzere Expositionszeit sind die wahrscheinlichste Erklärung für das schlechtere Therapieergebnis älterer Männer. Das männliche Geschlecht bei älteren Patienten als Risikofaktor unter einer rituximabhaltigen Chemotherapie wurde 2013 auch in einer italienisch-brasilianischen Studie von Carella et al.⁶⁵ bestätigt. In der RICOVER-60-Studie kann das unterschiedliche Therapieergebnis von Männern und Frauen nicht durch unterschiedliche Dosisintensität von Cyclophosphamid, Doxorubicin oder Rituximab erklärt werden (Abbildungen 8 und 9), da beide Geschlechter nahezu 100% der geplanten Dosen erhalten hatten. Einen geschlechtsspezifisch unterschiedlichen Effekt in der Rituximab-vermittelten Zytotoxizität auf CD20+ Zellen des

aggressiven Lymphoms besteht nicht.⁴⁰ Daher bleiben lediglich Unterschiede in der Rituximab-Clearance (und somit in den Rituximab-Serumspiegeln und Expositionszeiten) als einzige Assoziation und Erklärung für das unterschiedliche Therapieansprechen.

Beruhigend ist die Tatsache, dass sich das höhere Risiko für ältere Männer in weiteren prospektiven Studien bestätigte. Dies trifft aber nicht für jüngere Männer zu, welche in der MInT- und Mega-CHOEP-Studie^{14;30;33} mindestens genauso viel von der Hinzunahme von Rituximab zu CHOP profitierten wie jüngere Frauen. Da der zytotoxische Effekt von Rituximab auf die malignen Zellen bei jungen Männern und Frauen gleich stark ist, gibt es offensichtlich keine geschlechtsabhängigen Unterschiede in der Sensitivität der männlichen und weiblichen Lymphomzellen auf die zytotoxischen Effekte, welche von Rituximab vermittelt werden¹⁴. Tatsächlich finden sich in diesem Patientenkollektiv keine geschlechtsspezifischen Unterschiede. Die Rituximab-Clearance von Männern und Frauen divergieren jedoch mit steigendem Alter. Dies beruht auf der mit dem Alter signifikant abnehmenden Clearance bei Frauen, was zu einer bei älteren Frauen im Vergleich zu älteren Männern signifikant verlangsamten Rituximab-Clearance und somit zu höheren Serumspiegeln und längeren Expositionszeiten führt.

Die altersabhängige Abnahme der Rituximab-Clearance bei Frauen beruht am wahrscheinlichsten auf signifikanten Veränderungen im Metabolismus von Rituximab, welches vermutlich in der Leber und anderen Organen durch einen unspezifischen katabolen Prozess abgebaut wird^{21;43;44}. Wir haben nur eine vergleichbare Beobachtung in der Literatur gefunden: eine Untersuchung zu alters- und geschlechtsabhängigen Einflüssen auf die Pharmakokinetik von Lanoteplase, einem Plasminogenaktivator, bei dem ein geschlechtsabhängiger Effekt auf die Clearance beobachtet worden war³⁸. Ältere Frauen hatten in dieser Untersuchung im Vergleich zu älteren Männern eine um 32% niedrigere durchschnittliche Clearance.

Des Weiteren wurde auch eine Simulation der zeitlich unterschiedlichen Rituximab-Gaben in 14-tägigen und 21-tägigen Zyklusintervallen durchgeführt. Falls eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung bei Rituximab innerhalb der unterschiedlichen maximalen Dosisbereiche wirklich existieren würde, könnte man eine Überlegenheit der dosisdichteren Gabe annehmen. Allerdings ist bei der dosisdichten vierzehntägigen Gabe die Rituximab-Expositionszeit kürzer. Daraus kann man schlussfolgern, dass das dreiwöchige Schema effektiver sein müsste, falls eine längere Exposition der aggressiven Lymphomzellen mit Rituximab therapeutisch relevant wäre. Dass die kürzere Rituximab-Expositionszeit im R-CHOP-14 Schema mit der

letzten Rituximab-Applikation an Tag 98 nach Therapiebeginn im Vergleich zu R-CHOP-21 mit der letzten Rituximab-Gabe an Tag 148 vielleicht nicht das gesamte therapeutische Potential von Rituximab ausschöpft, wird von den Ergebnissen der SMARTE-R-CHOP-14-Studie⁴¹, einer Phase-II-Studie der DSHNHL bei älteren Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen unterstützt. In dieser Studie erhielten 190 Patienten 6 Zyklen CHOP-14 zusammen mit 8 Gaben Rituximab. Rituximab wurde über einen längeren, pharmakologisch modellierten Zeitraum gegeben, um eine maximale AUC zu erhalten, mit einer letzten Applikation an Tag 240. Dieses Schema ergab im Vergleich zur RICOVER-60-Studie deutlich niedrigere maximale Rituximab-Serumspiegel, aber die Rituximab-Expositionszeit war beträchtlich länger. In der SMARTE-R-CHOP-14-Studie⁴² waren noch an Tag 340 Serumspiegel von >25 ng/ml nachweisbar, in der RICOVER-60-Studie wurden diese Spiegel jedoch bereits an Tag 250 erreicht. Während bei älteren Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen mit guter Prognose (IPI 1 oder 2) keine Unterschiede im historischen Vergleich zur RICOVER-60-Studie³⁰ beobachtet wurden, war das 3-Jahre-progressionsfreie Überleben und das 3-Jahre-Gesamtüberleben der Patienten mit ungünstiger Prognose (IPI 3-5) jeweils um 13% besser als das der entsprechenden Population in der RICOVER-60-Studie, in welcher acht Gaben Rituximab in vierzehntägigen Intervallen gegeben wurden. Sollte die kürzere Rituximab-Expositionszeit in Kombination mit der Gabe von CHOP-14 tatsächlich nachteilig sein, würde dies erklären, warum R-CHOP-14 bei älteren Patienten im Vergleich zu R-CHOP-21 in den beiden 2011 publizierten Studien von Cunningham et al.⁴³ und Delarue et al.⁴⁴ nicht überlegen war, obwohl CHOP-14 in der NHL-B2 Studie⁸ der DSHNHL bei älteren Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen CHOP-21 überlegen war. Damit wäre bei R-CHOP-14 die wirksamere dosisdichte Chemotherapie mit der unwirksameren, kürzeren Rituximab-Applikation kombiniert, während bei R-CHOP-21 die unwirksamere Chemotherapie mit der wirksameren längeren Rituximab-Applikation kombiniert wird und sich somit die Effekte letztendlich nivellieren.

Aufgrund dieser Ergebnisse hat die DSHNHL eine Phase-2-Studie, die SEXIE-R-CHOP-14-Studie²⁹ gestartet, welche im November 2011 die Rekrutierung abgeschlossen hat und deren Ergebnisse seit kurzem vorliegen. In dieser Studie wurde geprüft, ob männliche Patienten, die eine Rituximab-Dosierung von 500 mg/m² pro Zyklus erhalten, ähnliche Serumspiegel wie Frauen erreichen, welche die Standarddosierung von 375 mg/m² erhalten. Eine weitere Fragestellung war, ob mit der erhöhten Rituximab-Dosierung bei älteren männlichen Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen im historischen Vergleich zur

RICOVER-60-Studie³⁰ ein besseres Therapieergebnis erzielt werden kann. Diese Studie zeigte, dass durch die erhöhte Rituximab-Dosierung bei Männern während der Therapiephase etwas höhere Rituximab-Talspiegel im Vergleich zu den Frauen erreicht werden können. Diese fielen jedoch im Vergleich zu denen älterer Frauen schneller ab. Im Endeffekt konnten bei Männern und Frauen beinahe identische Rituximab-Serumspiegel und Rituximab-Expositionszeiten erzielt werden. Im historischen Vergleich mit der RICOVER-60-Studie konnte zudem gezeigt werden, dass das erhöhte Risiko für Männer durch die erhöhte Rituximab-Dosierung eliminiert werden konnte.

5.2 Ausblick

Die Ergebnisse unserer Untersuchung helfen nicht nur bei der Interpretation kürzlich durchgeführter Studien bei Patienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen, sie sollten auch einen Einfluss auf das Design zukünftiger Regime mit Rituximab haben. Ein Ansatz, die Erstlinientherapie der aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphome mithilfe einer, auf pharmakokinetischen Erkenntnissen basierenden, veränderten Rituximab-Gabe zu verbessern, wird aktuell in der 2011 gestarteten OPTIMAL>60-Studie (EudraCT-No.2010-019587-36)⁴⁵ der DSHNHL verfolgt. In dieser wird unter anderem geprüft, ob das PFS durch 12 optimierte Gaben Rituximab statt 8 zweiwöchiger Gaben verbessert werden kann. Diese optimierten Gaben erfolgen zu Beginn der Therapie dosisdicht, um möglichst rasch hohe Rituximab-Spiegel zu erreichen. Die letzten vier Rituximab-Gaben finden nach Ende des sechsten Zyklus CHOP-14 statt, um noch möglichst lange die Serumspiegel aufrecht zu erhalten. Die Rituximab-Gaben im optimierten Arm finden an folgenden Tagen statt: d-4, -1, 1, 4, 14, 28, 42, 56, 91, 126, 175, 238. Im Vergleich hierzu die Tage, an denen Rituximab im konventionellen Arm gegeben werden: d0, 14, 28, 42, 56, 70, 84, 98. Falls Rituximab-Serumspiegel bedeutsam sind, wie eine Studie bei rezidierten aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen nahelegt¹⁵, wäre auch die Erhöhung der Rituximab-Dosis eine angemessene Strategie; und ein frühes Follow-up der DENSE-R-CHOP-14-Studie⁴⁶ der DSHNHL lässt vermuten, dass diese Strategie bei älteren Hochrisikopatienten mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen funktionieren könnte. Die am meisten überzeugenden Daten, dass die Pharmakokinetik basierte Adaptation der Rituximab-Gabe tatsächlich das Therapieergebnis von Patienten mit einer ungünstigen Prognose verbessern kann, kommen aus den Ergebnissen der SMARTE-R-CHOP-14-Studie⁴¹ der DSHNHL. In dieser haben ältere Patienten über einen Zeitraum von 240 Tagen 8 Gaben Rituximab

zusammen mit sechs Gaben CHOP-14 erhalten. Interessanterweise kam die 13% Verbesserung des Gesamtüberlebens in der Hochrisikogruppe der SMARTE-R-CHOP-14-Studie im Vergleich zur gleichen Population der RICOVER-60-Studie aus der 20% Verbesserung der männlichen Patienten mit ungünstiger Prognose (IPI=3-5), während hingegen die Frauen mit ungünstiger Prognose nur eine 4% Verbesserung hatten. Offensichtlich profitierten die älteren Männer mit ihrer schnelleren Rituximabclearance besonders von der verlängerten Rituximab-Expositionszeit in der SMARTE-R-CHOP-14-Studie. Besonders hervorzuheben ist, dass die verlängerte Rituximab-Expositionszeit in der SMARTE-R-CHOP-14-Studie die Unterschiede im Therapieergebnis älterer Männer und älterer Frauen komplett aufhob. Dies ist ein starker Hinweis darauf, dass zum ersten Mal das erhöhte Risiko der Männer mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen neutralisiert werden konnte, indem pharmakokinetische Konsequenzen aus den bisher gemachten Beobachtungen dieser Studie, z.B. längere Expositionszeit in der SMARTE-R-CHOP-14-Studie⁴¹, gezogen wurden. Ein weiterer Ansatz ergibt sich aus den seit Mai 2014 vorliegenden Daten der SEXIE-R-CHOP-14-Studie²⁹ der DSHNHL, in der Männer eine erhöhte Rituximab-Dosierung erhalten haben (500mg/m²).

Daher scheint bei synchroner Gabe mit CHOP die Rituximab-Dosierung von 375 mg/m² bei älteren Männern suboptimal zu sein. Wir wissen jedoch nicht, ob diese Rituximab-Dosierung (und das Schema) für ältere Frauen mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen bereits optimal ist, oder ob es durch höhere Rituximab-Dosen oder längere Rituximab-Expositionszeiten weiter verbessert werden kann. Da alle anderen Subgruppen eine signifikant schnellere Clearance als ältere Frauen haben, muss man davon ausgehen, dass nicht nur ältere Männer, sondern auch jüngere Frauen und jüngere Männer im Vergleich zu älteren Frauen eine suboptimale Dosierung erhalten. Daher sind weitere Studien notwendig, um die Rituximab-Dosierung und das Schema der Rituximab-Gabe bei allen Subgruppen mit aggressiven CD20 positiven B-Zell-Lymphomen zu verbessern. Diese Studien sollten therapeutisch machbar sein, da Rituximab ein breites therapeutisches Fenster hat, in dem keine signifikante Steigerung der Toxizität mit Einzeldosen bis zu 2250 mg/m² (bei Patienten mit CLL) beobachtet worden ist⁴⁷. Als logische Konsequenz sollten neue monoklonale CD20 Antikörper, welche in laufenden Studien höher dosiert werden als Rituximab, mit Rituximab in der gleichen Dosierung und im gleichen Schema verglichen werden, um aussagekräftige Ergebnisse zur relativen Effektivität des entsprechenden Antikörpers zu liefern.

6 Literaturverzeichnis

1. Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. Krebs in Deutschland 2009/2010.; 2013.
2. Tilly H, Vitolo U, Walewski J et al. (2012) Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann.Oncol.* 23:vii78-vii82.
3. McKelvey EM, Gottlieb JA, Wilson HE et al. (1976) Hydroxyldaunomycin (Adriamycin) combination chemotherapy in malignant lymphoma. *Cancer* 38:1484-1493.
4. Canellos GP, Skarin AT, Klatt MM et al. (1987) The m-BACOD combination chemotherapy regimen in the treatment of diffuse large cell lymphoma. *Semin.Hematol.* 24:2-7.
5. Longo DL, DeVita VT, Jr., Duffey PL et al. (1991) Superiority of ProMACE-CytaBOM over ProMACE-MOPP in the treatment of advanced diffuse aggressive lymphoma: results of a prospective randomized trial. *J.Clin.Oncol.* 9:25-38.
6. Klimo P, Connors JM. (1985) MACOP-B chemotherapy for the treatment of diffuse large-cell lymphoma. *Ann.Intern.Med.* 102:596-602.
7. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S et al. (1993) Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N.Engl.J.Med.* 328:1002-1006.
8. Hovgaard D, Nissen NI. (1992) A phase I/II study of dose and administration of non-glycosylated bacterially synthesized G-M CSF in chemotherapy-induced neutropenia in patients with non-Hodgkin's lymphomas. *Leuk.Lymphoma* 7:217-224.
9. Pfreundschuh M, Trumper L, Kloess M et al. (2004) Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood* 104:626-633.
10. Pfreundschuh M, Trumper L, Kloess M et al. (2004) Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood* 104:634-641.
11. Roche Pharma AG. Fachinformation Mabthera i.v. 2013.
12. Coiffier B, Lepage E, Briere J et al. (2002) CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N.Engl.J Med.* 346:235-242.

13. Maloney DG, Grillo-Lopez AJ, White CA et al. (1997) IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 90:2188-2195.
14. Berinstein NL, Grillo-Lopez AJ, White CA et al. (1998) Association of serum Rituximab (IDEC-C2B8) concentration and anti-tumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Ann.Oncol.* 9:995-1001.
15. Tobinai K, Igarashi T, Itoh K et al. (2004) Japanese multicenter phase II and pharmacokinetic study of rituximab in relapsed or refractory patients with aggressive B-cell lymphoma. *Ann Oncol* 15:821-830.
16. Blasco H, Chatelut E, de Bretagne IB, Congy-Jolivet N, Le Guellec C. (2009) Pharmacokinetics of rituximab associated with CHOP chemotherapy in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Fundam.Clin.Pharmacol.* 23:601-608.
17. Maloney DG, Liles TM, Czerwinski DK et al. (1994) Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 84:2457-2466.
18. Cartron G, Blasco H, Piantaud G, Watier H, Le Guellec C. (2007) Pharmacokinetics of rituximab and its clinical use: thought for the best use? *Crit Rev.Oncol.Hematol.* 62:43-52.
19. Marcus R, Imrie K, Belch A et al. (2005) CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood* 105:1417-1423.
20. Czuczman MS, Grillo-Lopez AJ, White CA et al. (1999) Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J.Clin.Oncol.* 17:268-276.
21. Gandhi M, Aweeka F, Greenblatt RM, Blaschke TF. (2004) Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Annu.Rev.Pharmacol Toxicol.* 44:499-523.
22. Jilma-Stohlawetz P, Reiter RA, Panzer S et al. (2005) Pharmacokinetics (PK) of S/D treated anti-D immunoglobulin after intramuscular injection in healthy volunteers: gender differences in PK. *Transfus.Apher.Sci.* 33:135-140.
23. Genentech, Inc and USA. Rituxan Investigator Brochure. 2013.
24. Ng CM, Bruno R, Combs D, Davies B. (2005) Population pharmacokinetics of rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) in rheumatoid arthritis patients during a phase II clinical trial. *J Clin Pharmacol.* 45:792-801.
25. Jager U, Fridrik M, Zeitlinger M et al. (2012) Rituximab serum concentrations during immuno-chemotherapy of follicular lymphoma correlate with patient gender, bone marrow infiltration and clinical response. *Haematologica* 97:1431-1438.

-
26. Swerdlow S H, Campo E, Lee Harris N (eds) (2008) WHO classification of tumours of Haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. WHO Press, Geneva
 27. Held G, Murawski M, Ziepert M et al. (2012) Role of radiotherapy for elderly DLBCL patients in the rituximab era: Final results of the RICOVER-noRX study of the DSHNHL. *J Clin Oncol* 30:515.
 28. Zwick C, Hartmann F, Zeynalova S et al. (2011) Randomized comparison of pegfilgrastim day 4 versus day 2 for the prevention of chemotherapy-induced leukocytopenia. *Ann.Oncol* 22:1872-1877.
 29. Pfreundschuh M, Held G, Zeynalova S et al. (2014) Increased rituximab (R) doses and effect on risk of elderly male patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: Results from the SEXIE-R-CHOP-14 trial of the DSHNHL. *J Clin Oncol* 32:539.
 30. Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M et al. (2008) Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol* 9:105-116.
 31. Pfreundschuh M, Kuhnt E, Trumper L et al. (2011) CHOP-like chemotherapy with or without rituximab in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: 6-year results of an open-label randomised study of the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol* 12:1013-1022.
 32. Pfreundschuh M. (2004) UNFOLDER-Studienprotokoll, DSHNHL 2004-3, Eudra CT-No. 2005-005218-19.
 33. Proost JH, Meijer DK. (1992) MW/Pharm, an integrated software package for drug dosage regimen calculation and therapeutic drug monitoring 1. *Comput.Biol.Med.* 22:155-163.
 34. Tran L, Baars JW, Aarden L, Beijnen JH, Huitema AD. (2010) Pharmacokinetics of rituximab in patients with CD20 positive B-cell malignancies. *Hum.Antibodies* 19:7-13.
 35. Regazzi MB, Iacona I, Avanzini MA et al. (2005) Pharmacokinetic behavior of rituximab: a study of different schedules of administration for heterogeneous clinical settings. *Ther.Drug Monit.* 27:785-792.
 36. Saven A, Grillo-Lopez AJ, Janakiraman M et al. (2000) Pharmacokinetic/pharmacodynamic correlations of extended dosing in patients with relapsed low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 96:650 .
 37. Mangel J, Buckstein R, Imrie K et al. (2003) Pharmacokinetic study of patients with follicular or mantle cell lymphoma treated with rituximab as 'in vivo purge' and consolidative immunotherapy following autologous stem cell transplantation. *Ann.Oncol.* 14:758-765.

38. Vachharajani NN, Raymond RH, Shyu WC, Stouffer BC, Boulton DW. (2011) The effects of age and gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics in healthy subjects of the plasminogen activator, lanoteplase. *Br.J Clin Pharmacol* 72:775-786.
39. Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N et al. (2011) Maintenance with rituximab after autologous stem cell transplantation in relapsed patients with CD20 positive diffuse large B-cell lymphoma: CORAL final analysis [abstract]. *J Clin Oncol* 29:505.
40. Ahlgrimm M, Pfreundschuh M, Kreuz M et al. (2011) Impact of Fc-gamma receptor polymorphisms in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP with or without rituximab. *Blood* in press.
41. Pfreundschuh M, Held G, Zeynalova S et al. (2011) Improved outcome of elderly poor-prognosis DLBCL patients with 6xCHOP-14 and 8 applications of rituximab given over an extended period: Results of the SMARTE-R-CHOP-14 trial of the German High-Grad Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL) *Blood* 118:272-273.
42. Murawski N, Held G, Zeynalova S et al. (2012) Outcome of elderly DLBCL patients with 6xCHOP-14 and 8 rituximab (R) applications given over an extended period (SMARTE-R-CHOP-14 Trial of the DSHNHL) *J Clin Oncol* 30.
43. Cunningham D, Smith P, Mouncey P et al. (2011) R-CHOP-14 vs. R-CHOP-21: Result from a phase III trial for the treatment of newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 29:504.
44. Delarue R, Tilly H, Salles G et al. (2011) R-CHOP-14 compared to R-CHOP-21 in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: Results of the second interim analysis of the LNH03-6B GELA study. *Ann.Oncol.* 22:iv117.
45. Pfreundschuh M. (2012) OPTIMAL>60-Studienprotokoll, DSHNHL 2009-1, EudraCT-No. 2010-019587-36.
46. Pfreundschuh M, Zeynalova S, Poeschel V et al. (2008) Improved outcome of elderly patients with poor-prognosis diffuse large B-Cell lymphoma (DLBCL) after dose-dense Rituximab: results of the DENSE-R-CHOP-14 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL) . *Ann Oncol* 19:iv99.
47. O'Brien SM, Kantarjian H, Thomas DA et al. (2001) Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. *J.Clin.Oncol.* 19:2165-2170.

7 Publikationen/Danksagung

Teile dieser Arbeit wurden auf folgenden Kongressen vorgestellt:

Poster:

V. Poeschel, M. Nickelsen, M. Hanel, S. Kremers, S. Wessendorf, H. Eimermacher, N. Peter, M. Wenger, M. Reiser, N. Schmitz, M. Pfreundschuh: **Dose-dense Rituximab in Combination with biweekly CHOP-14 for Elderly Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Results of a phase-I/II and Pharmacokinetic Study of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL).** ASH (American Society of Hematology)-Kongress. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2006; **108**: 2738.

M. Pfreundschuh, S. Zeynalova, V. Pöschel, M. Hänel, N. Schmitz, A.D. Ho, M. Reiser, M. Loeffler, J. Schubert: **Improved Outcome of Elderly Patients with Poor-Prognosis Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) after dose-dense Rituximab: Results of the DENSE-R-CHOP-14 Trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL).** ASCO (American Society of Clinical Oncology)-Kongress. J Clin Oncol 26, 2008 (suppl; abstr 8508).

M. Pfreundschuh, N. Murawski, S. Zeynalova, V. Pöschel, M. Reiser, A. D. Ho, C. Nickenig, S. Wessendorf, B. Metzner, S. Grass, J. Schubert, M. Loeffler, N. Schmitz: **Male sex is associated with lower rituximab trough serum levels and evolves as a significant prognostic factor in elderly patients with DLBCL treated with R-CHOP: Results from 4 prospective trials of the German High-Grade Non-Hodgkin-Lymphoma Study Group (DSHNHL).** ASH -Kongress. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2009; **114**: 3715.

N. Murawski, G. Held, S. Zeynalova, C. Mueller, V. Pöschel, A. Viardot, M. Haenel, U. Keller, M. Reiser, M. Ziepert, N. Schmitz, M. Pfreundschuh: **Outcome of elderly DLBCL patients with 6xCHOP-14 and 8 rituximab (R) applications given over an extended period (SMARTE-R-CHOP-14 Trial of the DSHNHL).** ASCO-Kongress. J Clin Oncol 30, 2012 (suppl; abstr 8025).

M. Pfreundschuh, C. Mueller, S. Zeynalova, G. Held, V. Pöschel, C. Zwick, T. Rixecker, N. Schmitz, N. Murawski: **Differential impact of sex in young and elderly patients with DLBC: Correlation with rituximab (R) pharmacokinetics.** ASCO-Kongress. J Clin Oncol 31, 2013 (suppl; abstr 8570).

Vorträge:

M. Pfreundschuh, S. Zeynalova, V. Pöschel, M. Hänel, N. Schmitz, M. Hensel, M. Reiser, M. Loeffler, J. Schubert: **Dose-dense Rituximab Improves Outcome of Elderly Patients with Poor-Prognosis Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Results of the DENSE-R-CHOP-14.** ASH (American Society of Hematology)-Kongress. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2007; **110**: 789.

M. Pfreundschuh, G. Held, S. Zeynalova, V. Pöschel, A. Viardot, M. Haenel, U. Keller, M. Reiser, M. Loeffler, N. Murawski: **Improved outcome of elderly poor-prognosis DLBCL patients with 6xCHOP-14 and 8 applications of rituximab (R) given over an extended period: Results of the SMARTE-R-CHOP-14 Trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL).** ASH (American Society of Hematology)-Kongress. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2011; **118**: 592.

Teile dieser Arbeit wurden in folgenden Zeitschriften publiziert:

C. Müller, N. Murawski, M. H. Wiesen, G. Held, V. Poeschel, S. Zeynalova, M. Wenger, C. Nickenig, N. Peter, E. Lengfelder, B. Metzner, T. Rixecker, C. Zwick, M. Pfreundschuh, M. Reiser: **The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL.** Blood. 2012 Apr 5;119(14):3276-84

M. Pfreundschuh, C. Müller, S. Zeynalova, E. Kuhnt, M. H. Wiesen, G. Held, T. Rixecker, V. Poeschel, C. Zwick, M. Reiser, N. Schmitz, and N. Murawski: **Suboptimal dosing of rituximab in male and female patients with DLBCL.** Blood. 2014 Jan 30;123(5):640-6

N. Murawski, M. Pfreundschuh, S. Zeynalova, V. Poeschel, M. Hänel, G. Held, N. Schmitz, A. Viardot, M. Dreyling, M. Hallek, M. Witzens-Harig, L. Trümper, T. Rixecker, and C. Zwick: **Optimization of rituximab for the treatment of DLBCL (I): Dose-dense rituximab in the DENSE-R-CHOP-14 trial of the DSHNHL**. Ann Oncol 2014 (accepted for publication).

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Pfreundschuh für die Überlassung des Themas, seine wertvollen Ratschläge und seine stete Unterstützung. Des Weiteren bedanke ich mich bei meinem Betreuer Dr. Murawski für seine sachkundige Beratung und Hilfestellung. Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Held, PD Dr. Müller, Dr. Preuss und meinen Kolleginnen aus der DSHNHL-Studienzentrale Homburg, insbesondere Anne Wolf und Tanja Rixecker, die mir stets mit guten Ideen, Anregungen und Diskussionen zur Seite standen. Zuletzt danke ich herzlich meiner Familie und meinen Eltern, die mich immer tatkräftig unterstützt haben.